



Title	アオリイカヘモシアニンの活性部位とその関連化合物に関する研究
Author(s)	木村, 政蔵
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33236
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	木	村	政	藏
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	5691	号	
学位授与の日付	昭和	57年	3月	25日
学位授与の要件	基礎工学研究科	化学系専攻		
	学位規則	第5条第1項該当		
学位論文題目	アオリイカヘモシアニンの活性部位とその関連化合物に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教 授	中原 昭次		
	(副査) 教 授	大塚齊之助	教 授	中崎 昌雄
		教 授	山田祥一郎	

論文内容の要旨

ヘモシアニン(Hc)は節足動物や軟体動物の血リンパ中に含まれて酸素運搬体として機能している銅タンパク質であり、その活性中心には2個の銅イオンが存在し、1分子のO₂を可逆的に結合している。Hcに含まれる銅はType III銅と呼ばれESRで検出されず、その銅の回りの構造即ち活性中心の構造を解明することは困難であった。そのため本研究ではHcの活性中心の構造を理解することを目的としてアオリイカ(*Sepioteuthis lessoniana*)のoxyHcに試薬を作用させて変性させたり銅のかわりにCo(II)イオンを置換することによって次の1及び2の結果を得た。またHcの銅を含めて一般にType III銅の磁気的及び酸化還元的性質を理解することを目的として複核及び単核の銅錯体を合成し種々の性質を測定して次の3及び4の結果を得た。

1. oxy Hcに80%までエチレングリコールを加えると可逆的に紫色になりこれをpurple Hcと呼ぶが、このpurple HcにはESRシグナルを与えるtetragonalな部位とCu(I)になりやすい部位が存在すること、またそのESRスペクトルの窒素の超々微細構造から窒素原子が銅の回りに3～4個結合していることが明らかになった。

2. Hcの銅を除きapoHcとしてCo(II)で置換すると活性中心の50%だけ置換されたhalf apo Co(II) Hcができるがこのことから活性部位の2つの部位は非等価であること、また可視吸収スペクトル及びMCDスペクトルからCo(II)の入った部位はtetrahedralな対称で、Co(II)が高スピンであることが示された。またhalf apo Co(II) HcのMCDスペクトルは340nm付近に全然吸収を持たないことから活性中心にはイオウ原子が存在していないこと、更にそのMCDスペクトルはCo(II) HCAB·CN(HCAB:ヒト炭酸脱水酵素B)のスペクトルに酷似していることから活性中

心にはヒスチジン残基のイミダゾールが3個結合していることが明らかになった。

3. 複核銅錯体を合成してそのESRスペクトル及び液体ヘリウム温度からの磁化率の温度変化を測定した結果から、 H_c を含めたType III銅が非常に強く反強磁的にカップリングして反磁性を示しているのは架橋配位子がそれぞれの銅にequatorial-equatorialで加橋しているためであると結論した。
4. 種々の単核銅錯体を合成してその酸化還元電位及びESRスペクトルを測定した結果から、Type III銅が非常に高い酸化還元電位を持っているのは銅の回りが容易にtetrahedral的に歪みうるような環境を持っているためであると推定した。
これらの結果をもとにアオリイカヘモシアニンの銅の回りの配位原子及びその対称性などについて考察を行い活性中心の構造の解釈を進展させた。

論文の審査結果の要旨

本論文は、アオリイカヘモシアニンの活性部位の構造について、銅タンパク質であるヘモシアニンそのものおよび関連する低分子銅錯体を用いて研究した結果を記述したものである。

まず、ヘモシアニンのエチレンギリコール処理体の構造を各種分光学的方法によって解明し、活性部位の2個の銅の一方が1価、他方が正方対称の2価となっていること、そのうち2価銅の周辺にはヒスチジンのイミダゾール窒素が少なくとも3個配位していることを明らかにした。つぎにヘモシアニンの銅のコバルト(II)置換を行い、コバルト(II)が一方の銅部位、おそらくエチレンギリコール処理で1価となる銅部位にのみ導入され、正四面体対称、高スピニ型をとること、その配位原子がヒスチジンイミダゾール窒素3個であることを明らかにした。また、従来から懸念とされていた配位原子中にS原子の含まれている可能性を完全に否定した。

つぎに、数種の単核および複核の銅(II)錯体を合成し、その特色づけを行うことにより、オキシヘモシアニンにおける2個の銅(II)イオンの強力な反強磁性的カップリングは軸上に配位した原子を通じてではなく、面内に配位した架橋原子を通じての相互作用により成立するものであることを指摘した。さらにオキシヘモシアニンの高還元電位は、容易に正四面体的に歪みうる配位環境をもつものであることを指摘した。

以上を総合して、本論文は難解なヘモシアニンの活性部位の構造に関し、多くの重要な知見を与えたものであり、博士論文として価値あるものと認められる。