

Title	西洋ワサビペルオキシダーゼと関連モデル化合物の共鳴ラマン散乱
Author(s)	寺岡, 淳二
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33264">https://hdl.handle.net/11094/33264</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

[10]

氏名・(本籍)	てら 寺	おか 岡	じゅん 淳	じ 二
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	5590	号	
学位授与の日付	昭和57年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科 無機及び物理化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	西洋ワサビペルオキシダーゼと関連モデル化合物の共鳴ラ マン散乱			
論文審査委員	(主査) 教授	京極	好正	
	教授	新村	陽一	教授 池田 重良

### 論文内容の要旨

西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) は過酸化水素を第1基質とし、現在知られているだけで約200種の第2基質を酸化するヘム蛋白質である。活性中心としてミオグロビン等と同じく鉄プロトポルフィリンを有するが、生理機能の面で大きな差がある。この問題を明らかにすることは、種々のヘム蛋白質において、“鉄原子上で外部配位子はどのようにして活性化されるか?” という問に対する1つの解答になりうる。

そこで本研究ではHRP及び種々のモデル化合物の共鳴ラマンスペクトルを測定し、HRPの特徴を明らかにしようと試みた。

まず還元型HRPの特徴は、(1)モデル化合物との比較から5配位高スピンである。(2) $^{54}\text{Fe}$ で再構成したHRPの同位体シフトの観測により帰属した鉄と第5配位子(His)の伸縮振動が高い、(3)この振動は軸配位してないヘム近傍のHisの解離を反映すること、である。(2)の原因については、還元型5配位高スピン化合物である $\text{Fe}^{2+}(\text{OEP})(2\text{-MeIm})$ と第5配位子の2-MeImの $\text{H}^+$ を化学的に引き抜いた $\text{Fe}^{2+}(\text{OEP})(2\text{-MeIm}^-)$ の鉄一軸配位子伸縮振動を、重水素置換により決定し比較することにより、HRPではHisの $\text{N}_\alpha\text{H}$ がイオン化しているか、あるいはかなり強く蛋白質残基と水素結合しているためであると結論した。これらの特徴は他のペルオキシダーゼ、すなわちJapanese-radish-, turnip ペルオキシダーゼについても確認し、これらの性質が、plant tissue ペルオキシダーゼの一般的特徴であることを明らかにした。

次いでHRPの酵素反応系中で最も特徴的な高酸化状態(compound I)を、液体窒素温度で安定化することにより、その共鳴ラマンスペクトルを初めて測定することに成功した。この実験は $\text{H}_2\text{O}$ と

D<sub>2</sub>O 中で行ない、鉄と第 6 配位子の振動と思われるラマン線がシフトしなかったことにより、配位子は OH<sup>-</sup>より O<sup>2-</sup>の可能性が高いと結論した。

これらのヘム蛋白質の共鳴ラマンスペクトル解釈上での基礎データとして、Fe(I)、Fe(II) 中間スピンの、Fe(III) 中間スピンのポルフィン、及び軸配位子として S<sup>-</sup>の配位したポルフィリンを化学的に合成し、その共鳴ラマンスペクトルの測定にも成功した。

## 論文の審査結果の要旨

近年着色錯体の構造研究に共鳴ラマン散乱が用いられている。しかしこの手法は単に単離した金属錯体のみでなく、複雑な構造を持つ蛋白質中に存在する錯体部分への利用の方が蛋白質部分のラマン散乱が現われないため一層有効である。この利点のため、ヘム蛋白質の研究に共鳴ラマン散乱は度々利用され、鉄の 2 価、3 価、および高低スピン状態の区別、第 5、6 座配位子の同定に成果を上げてきた。寺岡君の論文ではこれら通常の状態の鉄のみでなく、1 価および 4 価、中間スピンの状態にあるといわれているポルフィリン鉄錯体の共鳴ラマン散乱を測定することに成功し、これらの錯体に提唱されている鉄の状態を支持する結果を得た。

次に過酸化水素を還元する作用を触媒するヘム蛋白質の一つである西洋ワサビペルオキシダーゼのヘム近傍の構造を研究した。この酵素は第 5 配位子がヒスチジンと同定されているが<sup>56</sup>Fe を<sup>54</sup>Fe に置きかえたヘム鉄で再構成したペルオキシダーゼの共鳴ラマン散乱線の波数シフトから Fe-N 伸縮振動に由来するラマン線を同定した。その位置から第 5 配位子のヒスチジン残基はイオン化しているか蛋白質と強く水素結合した状態にあり、このラマン線が pH によってシフトするのはこのヒスチジンの解離によるのではなく第 6 配位子側の近傍にある、いわゆる distal なヒスチジンの解離を反映していることを明らかにした。次にこのペルオキシダーゼの反応段階の中で最も高酸化状態にあるコンパウンド I という種についてそのラマンスペクトルは先のモデル化合物の結果から推定して 4 価の状態にあるとするのが妥当であり、また Fe=O に相当するラマン線の存在から第 6 配位子として O<sup>2-</sup>が配位していることが明らかとなった。

以上寺岡君の研究では複雑な蛋白質の中のヘム近傍の構造を共鳴ラマン散乱というたぐみな方法によって解析し、モデル化合物との対比から考えられる最も確かな構造を支持しており、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。