



Title	紫外、可視共鳴ラマン分光法によるヘモグロビンの4次構造の研究
Author(s)	紙中, 庄司
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36462
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	かみ 紙	なか 中	しょう 庄	じ 司
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	8 7 0 1	号	
学位授与の日付	平成元年3月24日			
学位授与の要件	基礎工学研究科物理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	紫外、可視共鳴ラマン分光法によるヘモグロビンの4次構造の研究			
論文審査委員	(主査) 教授 葛西 道生			
	(副査) 教授 三井 利夫	教授 又賀 昇	助教授 森本 英樹	

論文内容の要旨

グロビンの α_1 - β_2 サブユニット界面の構造変化を時間分解的に捉えるために、時間分解紫外共鳴ラマン分光システムを製作し、CO結合形ヘモグロビンの光解離過程を追跡した。その結果、7 nsですでに4次構造変化が起きているという Dasgupta らの報告は誤りであることを明らかにした。さらに4次構造に変化が始まるのは10から20 μ sの時間範囲であることを突き止めた。

次にリガンド結合中間段階のヘモグロビンの4次構造がRとTのいずれかをとりか否かを調べた。その材料に Fe-Co ハイブリッドヘモグロビンを使った。4次構造マーカーとして Fe-ヒスチジン伸縮振動 ($\nu_{\text{Fe-His}}$) の共鳴ラマンバンドに注目した。この結果、TからRへの構造遷移は α および β サブユニットのいずれでもリガンドが2つ結合したときであることが明らかになった。 β サブユニットに1つだけリガンドが結合したときの $\nu_{\text{Fe-His}}$ バンドの波数はTともRとも異なり、このときの4次構造はT, R いずれでもないことが示唆された。これは2状態遷移モデルの正当性に疑問を投げかける実験データの1つとなる。また Fe-CO 伸縮振動 ($\nu_{\text{Fe-CO}}$) とその変角振動 (δ_{FeCO})、および Co 原子に結合した酸素分子の O-O 伸縮振動 ($\nu_{\text{O-O}}$) のバンド挙動から、ヘムポケットのディスタル側にある β サブユニットの E11 バリンが、 $\nu_{\text{Fe-CO}}$ や δ_{FeCO} に影響を与えるほどリガンド結合形で立体障害を起こさないこと、また結合酸素分子と E7 ヒスチジンとの水素結合は α と β サブユニットとであまり変わらないことが分かった。

最後に共鳴ラマン分光法と SERS 法を組み合わせた SERRS 法をヘモグロビン分子に応用した。そして ν_4 および $\nu_{\text{Fe-His}}$ バンドをマーカーとして銀コロイドに吸着したヘモグロビンの状態を調べた結果、銀コロイド調製にクエン酸塩を使用することでヘモグロビン分子の変性は防げることを指摘した。こ

れにより、微量にしか入手できない異常ヘモグロビンや遺伝子操作でつくられた変異株ヘモグロビンのラマン測定にこの手法を利用する基礎が得られた。

論文の審査結果の要旨

共鳴ラマン分光法は分子の局所構造解析に対して選択性がよく、分子構造変化に対して敏感である等の特徴がある。本研究はこの共鳴ラマン分光法の長所を生かして、ヘモグロビンの分子構造変化を調べたものである。

この論文は、第1章で紫外のパルスレーザーを使って、共鳴ラマン分光法を速い時間分解で、タンパク質分子中のアロマチックアミノ酸に使えるようにしたこと、第2章で可視共鳴ラマン分光法により、 $\text{Co}^{2+}-\text{Fe}^{2+}$ 混成ヘモグロビンの中間的な配位子結合状態を研究したこと、第3章で銀コロイドを使う共鳴ラマン分光の増感法がヘモグロビンにも適用可能であることを示したこと、の3章からなる。全体としてタンパク質分子の局所的構造を知る有力な手段である共鳴ラマン分光法を、装置、試料、方法の三方向から、適用範囲を大きく広げたものである。特に、第1章の時間分解紫外共鳴ラマン分光法は、これにより実質上はじめてヘモグロビンの構造変化をトリプトファンの振動構造の変化として、 $10\ \mu\text{sec}$ 領域でとらえたもので、ヘモグロビンの構造変化の研究として重要であるのみならず、タンパク質分子の構造変化を検出する有力な手段に発展することも期待できる。

以上のように、本論文は分子構造研究に新しい知見を与えたものであり、工学博士の学位論文として価値あるものと認める。