



|              |                                                                                                                                                                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Spectrophotometric, electron paramagnetic resonance and oxygen binding studies on the hemoglobin from the marine polychaete <i>Perinereis aibuhitensis</i> : Comparative physiology of hemoglobin.    |
| Author(s)    | Antonio, Fernando Tsuneshige Otsuka                                                                                                                                                                   |
| Citation     | 大阪大学, 1989, 博士論文                                                                                                                                                                                      |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                       |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37125">https://hdl.handle.net/11094/37125</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について</a>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) | アントニオ フェルナンド ツネシゲ オオツカ<br>ANTONIO FERNANDO TSUNESHIGE OTSUKA                                                                                                                                                                                                                                  |
| 学位の種類   | 医学博士                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 学位記番号   | 第 8781 号                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 学位授与の日付 | 平成元年 6 月 30 日                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科 生理系<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 学位論文題目  | Spectrophotometric, electron paramagnetic resonance and oxygen binding studies on the hemoglobin from the marine polychaete <i>Perinereis aibuhitensis</i> : Comparative physiology of hemoglobin. (海産多毛類 <i>Perinereis aibuhitensis</i> のヘモグロビンに関する分光測光, 電子常磁性共鳴, 酸素結合測定による研究: ヘモグロビンの比較生理学) |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 志賀 健<br>(副査)<br>教授 谷口 直之 教授 吉矢 生人                                                                                                                                                                                                                                                  |

## 論文内容の要旨

## (目 的)

環形動物のヘモグロビン (Hb) は分子量約380万の巨大分子で, 約200個のヘムを有し, 複雑な階層構造を形成しているが, 多くの脊椎動物の Hb と同様に, 酸素結合において, 協同性, Bohr 効果, イオンの効果, などの基本的なアロステリック効果を示す。本研究では, 中国産ゴカイ *Perinereis aibuhitensis* (環形動物多毛類) の巨大 Hb を精製し, その物理化学的な諸性質を, 他の環形動物の Hb や, 脊椎動物 Hb を代表するヒト Hb の諸性質と比較し, それらの生理的機能発現機序の差異を検討すると共に, 環境との関連における酸素結合特性の生理的意義について考察することを目的とする。

## (方 法)

(1)ゴカイ Hb の抽出及び精製は後藤らの方法に従った。(2)種々の誘導体の可視・紫外域の吸収スペクトル, 紫外域差スペクトル及び微分スペクトルは Hitachi 320L 型自記分光光度計を用いて記録した。(3)電子常磁性共鳴 (EPR) スペクトルは液体窒素温度で X バンド (9.32GHz) で測定した。(4)酸素結合機能は今井らの酸素平衡曲線自動記録装置によって測定した。

## (結 果)

(1)オキシ, デオキシ, CO, メト, シアンメト誘導体の吸収スペクトルは, メト誘導体における奇妙な形状と pH 依存性, 及びこれらの全ての誘導体の 277nm 付近の高い吸光度を除いて, ヒト Hb のそれに類似していた。(2)紫外域差スペクトル及び微分スペクトルは, 酸素結合の協同性の程度に関係する, 蛋白部分の酸素化誘起構造変化の存在を明らかにした。(3)メト誘導体の EPR スペクトルは, 異なるヘム環境を有する 4 つの共鳴種の存在を意味する高スピン型シグナルを示したが, 高い pH 条件でさえも,

metHbOH<sup>-</sup> から来る低スピン型シグナルは示さなかった。ニトロシル誘導体のスペクトルは、ニトロシル西洋ワサビ・ペルオキシダーゼやチトクロムCペルオキシダーゼのそれらに類似していた。(4)このHbの酸素親和性と協同性はHb依存性であった。二価陽イオン(Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>)は酸素親和性, Bohr効果, 協同性を著明に増加させ, この時, 協同性は生理的pHにおいて最大となった。Mg<sup>2+</sup>の効果はCa<sup>2+</sup>の効果より強かった。CO<sub>2</sub>及び2, 3-ジホスホグリセリン酸, イノシトル六リン酸などの陰イオンは, 酸素平衡曲線に対して何の効果も与えなかった。酸素親和性の温度依存性が小さく, 酸素化の反応熱は小さな値を与えた。(5)グラフ的解析によって, 完全な協同性を保存する最小の機能的単位(アロステリック単位)は, 6個のヘムをもつ単位であると推定した。

#### (総括)

- (1) 紫外域スペクトルでみられた277nmの高い吸収は, ある種の非ヘム・ポリペプチド鎖の存在または分子内の芳香族残基の高い含量, またはそれら両方, を意味している。
- (2) ニトロシル誘導体のEPRスペクトルは, ヘム鉄に配位する近位のアミノ酸残基はおそらくヒスチジンであることを示している。
- (3) 脊椎動物Hbとは違って, このHbの酸素結合機能は, オキシ型に選択的に結合する二価陽イオンによって調節されている。陸棲環形動物HbにおいてはCa<sup>2+</sup>が主なアロステリック・エフェクターであると報告されているが, 海水環形動物Hbにおいては, むしろMg<sup>2+</sup>が酸素結合調節において生理学的役割を果たしていると結論できる。このHbの酸素親和性の弱い温度依存性は, この変温動物における一種の環境適応のしるしである。
- (4) アロステリック単位が6個のヘムをもつ単位であることは, 脊椎動物の四量体Hbにおけるのと同様に, ヘム間相互作用は比較的少数のヘムの間でのみ起こることで強い協同効果が発現し, 複雑な階層構造は生理機能発現にとって本質的ではないことを意味する。

### 論文の審査結果の要旨

本研究では, 中国産ゴカイの巨大ヘモグロビン(分子量=約380万, ヘム数=約200)の光吸収スペクトル, 常磁性共鳴スペクトル, 酸素平衡曲線などの測定と解析を通じて, 以下の知見を得た。このヘモグロビンは脊椎動物ヘモグロビンに比べて, より多くの芳香族アミノ酸を含む。メト型誘導体のヘム鉄には水分子が配位していない。酸素親和性は, ヒト・ヘモグロビンとは異なり, 陰イオンでなく, 二価の陽イオンによって調節される。協同効果発現の分子内の最小単位は6個のヘムを含む単位である。

これらの結果は, ヘモグロビンにとって陰イオンが必ずしも共通の調節因子ではないこと, また, 強い協同効果や他のアロステリック効果の発現には, 必ずしも多数のヘムが関与する必要性はないことを意味し, ヒトの四量体ヘモグロビンのアロステリック効果とその意義について, 新しい見方を与えた。

以上の点から, 本研究は学位論文として充分価値のあるものと評価される。