



| | |
|--------------|---|
| Title | 脊椎動物ヘモグロビンのX線結晶構造解析 |
| Author(s) | Chong, Khoon Tee |
| Citation | 大阪大学, 1999, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/42183 |
| 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 | チヨン クン テイ Chong Khoon Tee |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (工 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 4 8 8 8 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 11 年 7 月 15 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科 物理系専攻 |
| 学 位 論 文 名 | 脊椎動物ヘモグロビンのX線結晶構造解析 |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 葛西 道生 (副査) 教 授 柳田 敏雄 教 授 村上富士夫 教 授 月原 富武 助教授 森本 英樹 |

論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物のヘモグロビン (Hb) の4次構造はいつ成立、固定したか、また構造変化及び機能調節 (ボーア効果、有機リン酸効果など) のメカニズムと立体構造の関係を明らかにするため、我々は脊椎動物の分岐点に位置する軟骨魚類 (アカエイ)、円口類 (日本産川ヤツメウナギ)、硬骨魚類 (クロマグロ ($\alpha\beta$)₂ 及び β_4 4量体) の Hb を集め X 線結晶構造解析を行った。

軟骨魚類 Hb としては初めてであるアカエイ Hb の deoxy 型と CO 型の 1.6 Å と 1.9 Å 分解能の X 線構造を決定した。構造の精密化もほぼ完全に完了し、脊椎動物の ($\alpha\beta$)₂ 4量体 Hb の4次構造及びリガンドの結合による構造変化のメカニズムは、 β 鎖の出現とほぼ同時に現れた軟骨魚類で成立したと証明できた。アカエイの Hb とヒトの Hb の一次構造の一致度は約39%であり、機能上重要なアミノ酸置換が多数含まれている。酸素平衡機能を調べると、ヒトとアカエイの Hb にあまり大きな差はない。アカエイとヒト Hb を比較した結果多数のアミノ酸置換の中に機能上重要な置換があり、一方で多数のアミノ酸置換が機能上重要な位置での構造変化ももたらし、それらが相殺しあって、機能的にはあまり違いのない Hb を造っている。

クロマグロの ($\alpha\beta$)₂ 4量体はルート効果を中心に簡単にまとめ、 β_2 4量体についてはヒトの ($\alpha\beta$)₄ 4量体及びヒト β_4 4量体の4次構造との比較を中心に検討した。deoxy 型クロマグロ β_4 4量体はヒト deoxy 型、CO 型 β_4 4量体と類似する R 構造をとることが分かった。リガンドの結合による構造変化はクロマグロ β_4 で見られる。しかしクロマグロ β_4 の構造変化はいままで脊椎動物 Hb でみられる構造変化と違ったものである。

ヤツメウナギ Hb の2量体の造られ方は他の脊椎動物とは別の界面で結合しており、その上2量体の上の会合様式は6量体であった。

以上の結果は脊椎動物 Hb の $\alpha_2\beta_2$ 型4量体と配位子結合に伴う構造変化は円口類と軟骨魚類の間で成立したと言う考えを証明するとともにいくつかの意外な事実を確認することになった。

論文審査の結果の要旨

生物の進化を分子のレベルで研究する分子進化学は、現在のところ、主にタンパク分子と DNA の 1 次構造の解析に依存している。本来分子進化といえば、立体構造に基づいた機能の分子進化を解明することが目標であるが、この面はいまのところ非常に弱い。立体構造に基づいた機能の研究も分子進化の研究も最も進んでいる脊椎動物のヘモグロビン、このような分子進化の研究に最も適している。

この論文は、無脊椎動物から脊椎動物が分岐した枝分かれのまわりの 3 種のヘモグロビン(円口類のヤツメウナギ、軟骨魚類のアカエイ、硬骨魚類のクロマグロ)の立体構造を X 線結晶解析で決定し、ヒトヘモグロビンと比較したものである。特に、アカエイヘモグロビンの構造は、分解能も高く、構造も良く精密化されており、軟骨魚類のヘモグロビンとしては初めての立体構造であり、概略次のようなことがわかった。

- 1) ヘモグロビンの 4 量体としての 4 次構造と配位子結合による 4 次構造の変化は、円口類を除く脊椎動物で共通である。
- 2) $\alpha 1\beta 1$ 界面の構造も、円口類を除く脊椎動物で共通である。
- 3) Protein Data Bank の硬骨魚類のヘモグロビンとヒトヘモグロビンとアカエイヘモグロビンの 3 者で立体構造を比較すると、軟骨魚類は確かに硬骨魚類よりヒトから遠い。
- 4) ヒトヘモグロビンとアカエイヘモグロビンの間で、酸素、プロトン、有機リン酸の結合部位の立体化学的な構造には、大きな変化がある。

一方、ヤツメウナギのヘモグロビンとマグロのヘモグロビンについても構造が解かれ、いくつかの重要な結論が得られた。中でも、ヤツメウナギのヘモグロビンが脊椎動物でありながら、他の脊椎動物ヘモグロビンと全く違った 4 次構造をとっていることが示されたことは特に重要である。

以上のように、この論文は、ヒトヘモグロビン型の脊椎動物のヘモグロビンが、円口類と軟骨魚類の間で成立したことを明確に示したこと、それ以後 4 次構造は保存されている中で、酸素平衡機能は以ているにもかかわらず、3 次構造は従来考えられているより大きく変化していて、活性部位に大きな変化を与えていることをしめしたことなど、立体構造に基づいた機能の分子進化の研究に端緒を開いた。本論文を博士(工学)の学位論文として価値のあるものと認める。