

Title	多周波数・強磁場電子スピン共鳴法による整数スピン ($S = 2$) マンガン(III)置換ミオグロビンの電子状態の解析
Author(s)	堀谷, 正樹
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48849
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 こちら 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 ほり 堀 たに 谷 まさ 正 き 樹

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 2 2 1 2 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 20 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

基礎工学研究科機能創成専攻

学 位 論 文 名 多周波数・強磁場電子スピン共鳴法による整数スピン ($S=2$) マンガン
(III) 置換ミオグロビンの電子状態の解析

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 萩原 政幸

(副査)
教 授 野村 泰伸 教 授 大城 理 准教授 堀 洋

論 文 内 容 の 要 旨

本論文はミオグロビン (Mb) のヘムを Mn(III) ポルフィリンに置換した Mn(III)Mb (スピン量子数 $S=2$) を用いて多周波数・強磁場電子スピン共鳴 (MFEP) 装置の高感度化を行い、Mn(III)Mb の EPR 信号を検出し、エネルギー準位を解析したものである。

今までの EPR 法を用いた金属タンパク質研究では活性中心の金属イオンが半整数スピンのときが主であり、整数スピン系ではクラマース二重項が無く、零磁場分裂の大きさが通常のマイクロ波エネルギーよりも大きいため観測が困難であった。市販の EPR 装置に比べて広い範囲で磁場挿引を可能にし、マイクロ波周波数を大きくすると原理的に EPR 遷移観測は可能になるが、巨大タンパク質中に埋もれた希薄スピン濃度の金属イオンの EPR 信号を検出するためには高感度化の必要があった。

10 GHz 帯では Mn(III)Mb 単結晶における EPR 信号の角度と温度依存性より、観測される EPR 信号は z 方向の $M_s = \pm 2$ 間の遷移で z 方向とヘム垂直方向とが一致することを実験的に示した。35 GHz 帯では Mn(III)Mb 単結晶における EPR 信号の角度と温度依存性より、観測される EPR 信号は x - y (ヘム面内) 方向の $|-2\rangle \leftrightarrow |-1\rangle$ 準位間の遷移である事を実験的に示した。 $S=2$ のスピンハミルトニアンにおける零磁場分裂定数を精密に決定するため、高感度 50~130 GHz 帯円筒形空洞共振器を開発し Mn(III)Mb 溶液における高感度 MFEP 測定に成功した。MFEP 信号のシミュレーション解析より零磁場分裂定数 $D = -3.79 \text{ cm}^{-1}$ 、 $|E| = 0.08 \text{ cm}^{-1}$ を正確に決定した。

本研究は整数スピン系 ($S=2$) 金属タンパク質についての初めての MFEP 信号の報告である。Mn(III) と同じ整数スピンを持つ Fe(II) ヘムタンパク質の EPR 測定を可能にする方法論を確立した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヘムタンパク質に代表される金属タンパク質の活性中心にある金属イオンの電子状態変化から活性部位のミクロ環境の構造変化、タンパク質の機能発現機構を明らかにする研究法のひとつに電子スピン共鳴 (EPR) 法がある。EPR を用いたヘムタンパク質の研究では半整数スピン ($S=1/2$, $S=5/2$) を持つ Fe(III) 状態が主であった。生理的に重

要であり、整数スピン系ヘム鉄 ($S=2$) を持つ還元型 Fe(II) ヘムタンパク質のヘム鉄の電子状態は EPR 信号が検出されていない為、ほぼ半世紀にわたる研究にもかかわらず十分な知見が得られていない。本論文は、この課題に対して、零磁場から高磁場の広範囲な磁場挿引が可能で様々なエネルギー準位間の遷移観測を可能にする強磁場高感度多周波数 EPR システムを開発する事によって $S=2$ 整数スピン系タンパク質の EPR 信号の検出を可能にしたものである。本研究では、還元型 Fe(II) ヘムタンパク質の代わりに還元型 Fe(II) ヘム鉄と同じ整数スピン $S=2$ を持つ Mn(III)-ポルフィリンで置換したミオグロビン (Mn(III)Mb) を用いて EPR 信号の検出、スペクトル解析を行ったものである。低周波数帯 EPR では $\Delta S=2$ 遷移観測を可能にする二重モード空洞共振器を作製し、Mn(III)Mb 単結晶の EPR 信号の角度依存性、温度依存性解析より、ヘム面に対する主軸 (z) の向きを決定し、零磁場分裂定数 D が負である事を実験より示した。33~130 GHz 帯では高感度空洞共振器を新規に開発し測定感度を向上させることによって、巨大タンパク質分子に埋もれた低スピン濃度の金属イオンの EPR 測定を可能にした。Mn(III)Mb 溶液の EPR 信号解析より、零磁場分裂定数 $D = -3.79 \text{ cm}^{-1}$ 、 $E = 0.08 \text{ cm}^{-1}$ を正確に決定し、詳細なエネルギー準位を決定した。本研究は整数スピン系金属タンパク質についての初めての多周波数・強磁場 EPR 信号の報告である。本研究で用いられた解析手法は、Mn(III) と同じ整数スピン系である Fe(II) ヘムタンパク質の EPR 測定を目指す今後の研究に有用である。本論文は国際的に高く評価される独創的な研究の成果を述べたもので、博士 (理学) の学位論文として価値のあるものと認める。