

Title	放射光を用いたMg(II)-Fe(II)混成ヘモグロビンのX線結晶解析
Author(s)	朴, 三用
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3081490">https://doi.org/10.11501/3081490</a>
DOI	10.11501/3081490
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	ばく さん よん 朴 三 用
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 11917 号
学位授与年月日	平成 7 年 3 月 23 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	放射光を用いた Mg (II) - Fe (II) 混成ヘモグロビンの X 線結晶解析
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    助教授 森本 英樹

#### 論 文 内 容 の 要 旨

Mg (II) - Fe (II) 混成 Hb は酸素親和性が低い。 $\alpha^{(\text{Fe}(\text{II}))}_2 \beta^{(\text{Mg}(\text{II}))}_2$  混成 Hb を沈澱剤としては硫酸溶液と PEG 溶液を用いて deoxy 型と CO 型の結晶を分解能 1.7 Å と 1.9 Å までそれぞれ解析した。Fe 原子に CO が結合した時の構造変化は全体としては界面での 4 次構造変化はなく、deoxyHb の構造から COHbA の構造に動き出して途中で止まっていると言える。まず、 $\alpha^{(\text{Fe}(\text{II}))}_2 \beta^{(\text{Mg}(\text{II}))}_2$  の構造は deoxyHbA と同じ構造であり、 $\alpha$  鎖に配位子 CO 分子が結合すると E ヘリックスはほとんど変化せず F ヘリックスのみ変化していた。Fe 原子は COHbA と同様にヘムの中心近くにあった。F ヘリックスの変化は COHbA と比べて約  $\frac{1}{3}$  ぐらいであり、動きを制限されていることが酸素親和性を下げていると考えられる。

$\alpha^{(\text{Mg}(\text{II}))}_2 \beta^{(\text{Fe}(\text{II}))}_2$  混成 Hb は deoxy 型と CO 型で結晶化して分解能 1.7 Å と 1.9 Å までそれぞれ解析した。混成 Hb の構造は 4 次構造変化はなく、COHbA の構造に動き出して途中で止まっている。 $\alpha^{(\text{Mg}(\text{II}))}_2 \beta^{(\text{Fe}(\text{II}))}_2$  の構造は deoxy HbA と同じ構造であり、 $\beta$  鎖に配位子 CO 分子の結合により E ヘリックスのほうが F より大きく変化しており、結合した配位子に直接接触している Fe 原子や E7 His, E11 Val の残基は COHbA とほぼ同じ変化をしていた。

$\alpha^{(\text{Mg})}_2 \beta^{\text{E11Val} \rightarrow \text{Ile}}(\text{Fe})_2$  の混成 Hb は deoxy 型と CO 型で結晶化して分解能 1.9 Å までそれぞれ解析した。 $\alpha^{(\text{Mg})}_2 \beta^{\text{E11Val} \rightarrow \text{Ile}}(\text{Fe})_2$  の構造は  $\beta$  鎖の配位子結合に立体障害である E11 Val に比べ余分の  $-\text{CH}_3$  基がヘム鉄のほうに付き出しており、配位子結合の障害が Val より大きくなっているが、 $\alpha^{(\text{Mg})}_2 \beta^{\text{E11Val} \rightarrow \text{Ile}}(\text{Fe}-\text{CO})_2$  の構造と  $\alpha^{(\text{Mg}(\text{II}))}_2 \beta^{(\text{Fe}(\text{II})-\text{CO})}_2$  の構造と比較すると E11 Ile の側鎖が立体障害を避けて少し横にずれるだけで E ヘリックス全体に大きな変化は見られなかった。このことは、すきまの少ないと言われる  $\beta$  鎖のヘムポケットでも配位子結合の立体障害である E11 に  $-\text{CH}_3$  基を 1 つ加えたぐらいはヘム周辺の空間に吸収されてしまうと言うことである。

現在まで発表されている T 構造の deoxy Hb へ配位子が結合した構造と比べると配位子結合による構造変化の傾向はほぼ一致しているが、Fe の位置や、 $\beta$  鎖の E11 Val 等の重要な部位の変化の大きさに大きな違いがある。分解能や精度から見てこの論文に示した CO の結合した Mg (II) - Fe (II) 混成 Hb の構造が、T 構造の deoxy Hb へ配位子が結合した構造を示していると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

この研究は、X線結晶解析で、酸素の結合していないヘモグロビンの4次構造を固定したままCOを結合させたときの、3次構造変化を明らかにしたものである。Mg<sup>2+</sup>-Fe<sup>2+</sup>混成ヘモグロビンの特性を生かし、 $\alpha$ 鎖にだけCOの結合した場合としていない場合、 $\beta$ 鎖にだけCOの結合した場合としていない場合、 $\beta$ 鎖のCO結合を障害する位置のValをIleに置換した上でCOの結合した場合としていない場合の、6種類を結晶化し、放射光を用いた高輝度のX線源を使って、1.7~1.9Å分解能でX線結晶解析と構造の精密化を行い、CO結合前後の構造を比較したものである。

ヘモグロビンのアロステリック効果の機構を明らかにするには、配位子結合の中間段階にあるヘモグロビンの構造を明らかにすることが不可欠である。通常での溶液では、このような分子は、低い比率でしか存在しないので、種々の工夫が行われている。X線結晶解析では、主として、種々の混成ヘモグロビンを使って、配位子結合の中間段階にあるヘモグロビンの構造を決定することが、いくつか行われている。それらに比べて、この研究では、分解能が高く、COも結合すべき所には100%結合しており、格段に精度が高い構造を得ることに成功している。

以上のように、この研究は、事実上酸素の結合していないヘモグロビンに1個COが結合したときの構造を初めて明らかにしたものであり、工学博士の学位論文として価値あるものと認める。