

氏名	森 島 宏 もり しま ひろし
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 196 号
学位授与の日付	昭 和 45 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	<b>Primary Process in the Direct Action of Ionizing Radiation on Proteins ; Electron Paramagnetic Resonance of a Glycylglycine Single Crystal <math>\gamma</math>-Irradiated at 77°K</b> (タンパク質に対する電離放射線の直接作用における初期過程: 77°K で $\gamma$ 線照射されたグリシルグリシン単結晶の電子常磁性共鳴)
論文調査委員	(主 査) 教 授 波 多 野 博 行 教 授 高 木 秀 夫 教 授 大 西 俊 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

放射線の照射によって固体のタンパク質に生成する安定な遊離基には不対電子がイオウ原子上に局在するものと炭素原子上に局在するものとの二種がある。

本論文は、イオウ遊離基以外のもう一つの安定遊離基、すなわち炭素遊離基、 $-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{CO}-$ 、の生成する過程を明らかにするために、タンパク質のもっとも単純なモデルであるグリシルグリシンの単結晶を用いて、低温において  $\gamma$  線を照射した際に生成する遊離基について EPR 法による研究を行ない、低温において不安定な前駆体遊離基が存在することを見出し、これが熱あるいは光によって安定な遊離基へ転換することを証明した。グリシルグリシン単結晶に、77°K、暗所で  $^{60}\text{Co}\gamma$  線  $10^6$  rad を照射し、生成した遊離基の EPR スペクトルを測定して、その構造を明らかにするとともに熱あるいは光に対する挙動を研究した。77°K、暗所において観測されるスペクトルは主として三重線であるが、磁場の方向によって超微細構造は複雑な変化を示した。このスペクトルの特徴を解析し、X線解析の結果を参照することによって、このスペクトルを示す遊離基は二つの  $\alpha$  プロトンをもつものであって、超微細結合テンソルの主値として、 $A_x=17$ ,  $A_y=27$ ,  $A_z=9$  (G) がも定められ、 $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}_2$  なる構造をもつ遊離基が推定された。昇温にともなってこのスペクトルは二重線に変化し、スペクトルの特徴と超微細結合テンソルとから、このスペクトルを示す遊離基は  $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{COO}^-$  であると同定された。また可視光の照射によっても同様のスペクトルが得られ同じ遊離基に変化していることが確かめられた。この過程は初めに生成する不安定種に関する一次反応であることが示された。これらの結果に基づいてこの不安定の遊離基が熱あるいは光によって安定な炭素の遊離基に転換する機構を提出した。

参考論文その 1 はポリグリシン、ポリアラニン、ポリグルタミン酸に低温で  $^{60}\text{Co}\gamma$  線を照射して、EPR スペクトルを観測し、また昇温にともなう遊離基量の変化から、不安定遊離基と安定遊離基との転換を明らかにしたものである。

その 2 はオキシヘモグロビン、メトヘモグロビン、グロビン、グロビン-ヘミン混合物、およびヘミン

に、低温で放射線を照射し、観測される EPR スペクトルを解析した結果、放射線による損傷はタンパク質部分に起っていることが明らかにされたものである。

その3はタンパク質に対する放射線の直接作用の研究のために、ポリアミノ酸、ペプチド、アミノ酸単結晶など、単純なモデル系を用い、低温における遊離基の同定および昇温により安定ラジカルに転換する過程をEPRを観測することによって追求したものである。

その4はイソプレノイド生合成の中間体と考えられるメバロン酸、メバロラクトンおよびそのリン酸エステルの定性、定量分析法に関するものであり、またその5はブドウ状球菌の無細胞抽出酵素を用い、 $2-^{14}\text{C}$ -メバロン酸から、イソペンテニルピロリン酸を生成させ、メバロン酸の2位置の炭素はイソペンテニル基のメチレンの炭素となることを確認したものである。

### 論文審査の結果の要旨

生体に対する放射線の直接作用を解明するために放射線の照射によって固体タンパク質に生成する遊離基について、電子常磁性共鳴 (EPR) 法による研究が主として常温において行なわれてきた。その結果、安定な遊離基には不対電子がイオウ原子上と炭素原子上とに局在する2種があって、一つはシスチン残基上の  $-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_2-\dot{\text{S}})-\text{CO}-$  型、もう一つはグリシン残基上の  $-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{CO}-$  型であることが明らかにされてきた。しかしながらタンパク質は約20種のアミノ酸よりなる分子量約1万以上の高分子であり、また放射線は分子のいずれの部分にも影響を与えることが予想されるので、このように特定の残基に局在した形の損傷が一般的にあらわれることは不思議に思われてきたことであった。液体窒素温度や液体ヘリウム温度のような低温で照射し、測定すると室温と異なるスペクトルがしばしば観測されるところであり、このことは、上記の損傷の選択性を解明するために、低温において凍結された過程および温度変化に伴う過程に関する研究が有効であることを示唆している。上述のイオウ遊離基に関してはすでにシスチン単結晶について低温でS-S結合にイオン遊離基が生成し、昇温にともなってこれが安定な  $-\dot{\text{S}}$  型遊離基に転換することが明らかにされてきた。

イオウ遊離基外のもう一つの安定遊離基、すなわち炭素遊離基、 $-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{CO}-$ 、の生成する過程は申請論文によってはじめて明らかにされたものである。主論文はタンパク質のもっとも単純なモデルであるグリシルグリシンの単結晶を用いて、低温においては不安定な前駆体遊離基が存在することを見出し、これが熱あるいは光によって安定な遊離基へ転換するものであることを証明したものである。

グリシルグリシン単結晶に、低温暗所で  $^{60}\text{Co}\gamma$  線を照射し、生成した遊離基のEPRスペクトルを測定すると主として三重線より成るスペクトルが観測され、その超微細構造は磁場の方向によって、複雑な変化を示した。このスペクトルの特徴の解析の結果このスペクトルを示す遊離基は、 $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}_2$  なる構造をもつものと推定され、これが昇温にともなって二重線スペクトルに変化することから  $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{COO}^-$  なる構造をもつ遊離基に変化するものであることが示された。また可視光の照射によっても同様のスペクトルが得られ同じ遊離基に変化していることが確かめられている。この過程は初めに生成する不安定種に関する一次反応であることが示され、この不安定遊離基が熱あるいは光によって安定な炭素の遊離基に転換する機構を提出している。

この機構は、本実験において観測された事象をよく説明するとともに、この機構に従えば、さらに参考論文において行なわれた研究の結果をもよく理解することができる。この結果は従来報告されてきた多くのタンパク質におけるグリシン残基上の遊離基の生成の機構をよく説明するものである。

参考論文はいずれもポリグリシン、ポリアラニン、ポリグルタミン酸、オキシヘモグロビン、メトヘモグロビン、グロビン、グロビン-ヘミン混合物及びヘミンなどに低温で $^{60}\text{Co}\gamma$ 線を照射して、EPRスペクトルを観測し遊離基の生成とその転換、消失を証明し、タンパク質における放射線の直接作用を明らかにする基礎的知見をえたものである。またイソプレノイド生合成の中間体と考えられるメバロン酸、メバロラクトンおよびそのリン酸エステル定性、定量分析法を報告しブドウ状球菌の無細胞抽出酵素を用い、これらの生合成機構解明の研究を行なったものである。

要するに、申請者はタンパク質におけるラジカルの生成と転換について研究し放射線の直接作用の機構について数々の興味ある貴重な知見を生体高分子化学と磁気共鳴の分野に加え、この研究領域の発展に寄与するところが少なくない。また主論文、参考論文を通じて申請者が生体高分子化学および物理化学に豊富な知識と優れた研究能力とをもっていることを認めることができる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。