

氏 名	内 藤 晶 ないとう あきら
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 528 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 5 月 23 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	低温 γ 線照射された含硫アミノ酸単結晶に生成するイオンラジカルの電子スピン共鳴及び電子核二重共鳴による研究

(主 査)
論文調査委員 教授 波多野博行 教授 丸山和博 教授 広田 襄

論 文 内 容 の 要 旨

硫黄原子は放射線に対する感受性が高く、硫黄を含む化合物は放射線化学的に極めて興味が深いので、シスチン、システイン、メチオニンの単結晶を用いる放射線効果の研究が ESR 及び光吸収を用いて数多くなされてきた。その結果、室温ではシスチン、システイン、メチオニン共、同じ構造の硫黄ラジカルが主に生成する事が判明した。しかもこの硫黄ラジカルは酵素の室温照射により生成するラジカルと同じものであると g 値の異方性から考えられる。しかし低温照射によって生成する放射線初期過程の生成物は3種のアミノ酸においてそれぞれ異っている。シスチン、メチオニンの場合、この初期生成物は硫黄に不對電子が局在したイオンラジカルである。これらのイオンラジカルは昇温や光照射により何段階かの経路を経て最終的に酵素の室温照射の際に生成した硫黄ラジカルと同じものに変換する。したがってこの初期過程生成物の構造及び電子状態について研究する事は生体の放射線効果を理解する上で重要である。

本論文は試料として生物学的にも興味のある L- シスチン2 塩酸塩単結晶、N- アセチル DL- メチオニン単結晶を用い、放射線初期過程に生成するイオンラジカルの構造と電子状態に関する研究を行ったものである。研究手段としては ESR 及び ENDOR 分光器を用い、さらに硫黄の同位体で天然存在比が 0.76%、核スピン $1=3/2$ である ^{33}S 核による ^{33}S - 超微細構造 (hfs) の観測を行なった。

L- シスチン2 塩酸塩単結晶を低温暗所で γ 線照射した際にはジスルフィドアニオンラジカル ($\text{R-S}\cdot\text{S-R}$) $^-$ (以後 α_1 と略す) とジスルフィドカチオンラジカル ($\text{R-S}\cdot\text{S-R}$) $^+$ (以後 γ と略す) が同時に生成する。この α_1 の不對電子軌道は g 因子の解析から S-S 結合の反結合性軌道 (σ_{ss}^*) である事が予想された。主論文その (1) において α_1 の ^{33}S -hfs を検出し ^{33}S -hfs テンソルを得た。この結果はこのラジカルの不對電子軌道の s 性はそれぞれの硫黄原子について 2.8% と非常に小さく不對電子軌道は純粹の p 軌道から構成されている事を示している。さらに不對電子軌道の方向を示す $A_{\parallel}$ の主軸方向は S-S 結合方向に平行な結晶の C 軸にほぼ平行である事が判明した。これらの結果は不對電子軌道が反結合性軌道 (σ_{ss}^*) である事を支持している。

主論文その(2)においては α_1 と γ の両方についてその ENDOR スペクトルの観測を行い、硫黄原子に隣接する炭素上の C_2 対称で結ばれた2組のメチレンプロトンの hfs テンソルを決定した。一方 α_1 と γ の電子状態についての知見を得るために UHF INDO の計算をアニオン、カチオンの両方についてモデル物質としてジメチルジスルフィドとジエチルジスルフィドを用いて行った。その結果不對電子軌道はジメチルジスルフィド、ジエチルジスルフィド共、同じでありスピン密度はほとんど S-S 付近に局在化している事が解った。そしてアニオンの不對電子軌道は(σ_{3p}^*)でありカチオンの不對電子軌道は(π_{3p}^*)である事が解った。この結果は g 値及び ^{33}S -hfs から得られた結果をよく説明している。

N-アセチル DL-メチオニン単結晶を低温、暗所で γ 線照射した際には硫黄の非結合性軌道に正孔がトラップされたカチオンラジカル(以後 β と称する)が主に生成する。主論文その(3)においてはこの β ラジカルの ^{33}S -hfs の検出を行った。その結果この β ラジカルの s 性は 3.2% と非常に小さく d 軌道を省略する限り不對電子軌道は p 軌道でありその p 性は 60% とかなり小さい値を示している。この値はジスルフィドアニオンやセレンのダイマーカチオンの値に近い。また β ラジカルの場合 ^{33}S 核を含まないラジカルと ^{33}S 核を含んだラジカルの ESR スペクトルの強度比は 300:1 であり、この比は不對電子が2個の硫黄原子に等価に分布しているジスルフィドラジカルの理論強度比 270:1 に近い。これらの結果はこの β ラジカルがダイマーカチオンである事を示唆している。この事は N-アセチル DL-メチオニンの ENDOR スペクトルと S-メチルプロトンをデューテロンに置換した SCD_3N -アセチル DL-メチオニンの ESR スペクトルを観測することによって確かめられた。さらに硫黄原子に隣接する炭素上のメチレンプロトンとメチルプロトンの hfs 定数を決定し、その値を使って ESR スペクトルのシミュレーションを行なったところ実測の ESR スペクトルとよく一致した。この事からもダイマーカチオンの形成が証明された。この β ラジカルは硫黄ラジカル特有のかなり異方性の大きい g 値(主値 2.002, 2.013, 2.022)を示す。光吸収からのデータを用いてこのダイマーカチオンの g 値の計算を行った結果、その主値の軸対称からのずれについて有意の値が得られ、ダイマーカチオンラジカルの不對電子軌道は σ_{ss}^* であると結論される。

論文審査の結果の要旨

放射線生物学的な立場から生物学的に重要な分子(たんぱく質、酵素、核酸)に放射線を照射し、その分子のどの部位が損傷を受け易いかについての研究が数多くなされ、その結果硫黄を含む分子は放射線に対して感受性が高い事が明らかにされてきた。例えば酵素分子では含硫アミノ酸であるシステインおよびメチオニンの残基が酵素の活性部位に関与している事が多く、システインはまたその S-S 結合によって酵素の3次構造を保つのに重要な役割を果しているが、これらの含硫アミノ酸残基に放射線損傷が集中するという事は酵素失活の原因になると考えられる。以上の様な観点から、硫黄を含む分子に対する放射線的作用を明らかにするためにシステイン、シスチン、メチオニンを用いる放射線効果の研究が電子スピン共鳴(ESR)及び光吸収を用いて数多くなされてきた。その結果、室温では、システイン、シスチン、メチオニン共、いずれも同じ構造の硫黄ラジカルが主に生成するが、低温では放射線初期過程の生成物は3種のアミノ酸においてそれぞれ異なっていることが知られている。この室温で生成する硫黄ラジカルは g 値

の異方性から酵素の室温照射により生成するラジカルと同じものであると考えられるが、低温照射によるこの初期生成物は硫黄に不対電子が局在したイオンラジカルである。これらのイオンラジカルは昇温や光照射によりいくつかの中間体の段階を経て最終的には室温照射の際に生成した硫黄ラジカルに変換することが知られている。したがってこの初期過程生成物の構造および電子状態について研究することは生体の放射線効果を理解する上で極めて重要なことであると思われる。

申請者は以上の観点から過去の研究成果に基づいて、低温で γ 線を照射した際含硫アミノ酸単結晶に生成するイオンラジカルの ESR および ENDOR による研究を行ったものである。試料として用いられている L-シスチン 2 塩酸塩単結晶、N-アセチル-DL-メチオニン単結晶は生物学的にも有意義の化合物であり、それらの放射線初期過程に生成するイオンラジカルの構造と電子状態に関する知見を得ることを目的として研究が進められている。

研究手段として用いられている ESR および ENDOR 法は以上の目的のためには極めて強力な手段である。さらに硫黄の同位体で天然存在比が 0.76%, 核スピン $I=3/2$ である ^{33}S 核による ^{33}S 超微細構造 (hfs) の観測を行っているがこれは硫黄ラジカルにおいては測定が非常に困難ではあるが検出されれば情報量の多い優れた方法である。

L-シスチン 2 塩酸塩単結晶を低温暗所で γ 線照射した際にはジスルフィドアニオンラジカル (R-S-S-R^-) (以後 α_1 と略す) とジスルフィドカチオンラジカル (R-S-S-R^+) (以後 γ と略す) が同時に生成するが、主論文その (1) においては α_1 の ^{33}S -hfs を検出しその解析を行っている。またこの検出により ^{33}S -hfs テンソルを得ている。その結果はこのラジカルの不対電子軌道は純粋な P 軌道から構成されていることを示している。

また主論文その (2) においては α_1 と γ の両方についてその ENDOR スペクトル観測しており、これによって硫黄原子に隣接する炭素上の C_2 対称で結ばれた 2 組のメチレンプロトンの hfs テンソルが決定されている。このメチレンプロトンの hfs 異方性は 2 G 程度であり ESR の精度では到底テンソルは決定できないものである。また γ の ESR スペクトルは hfs が分離されなかったが ENDOR によって初めて hfs 定数が決定されている。また α_1 と γ の電子状態についての知見を得るために UHFINDO の計算をアニオン、カチオンの両方について行っている。その結果アニオンの不対電子軌道は基本的に (σ_s^*p) であり、カチオンのそれは基本的に (π_s^*p) であることが示された。この結果は g 値および ^{33}S -hfs からえられた結果をよく説明している。

N-アセチルメチオニン単結晶の場合には硫黄の非結合軌道に正孔がトラップされたカチオンラジカル (以後 β ラジカルと称する) が主に生成する。この β ラジカルは光や熱に非常に敏感であり、光照射により正孔が移動したりわずかに昇温することによって別のラジカルに変換することが知られていた。この β ラジカルの構造について研究し主論文 (3) において β ラジカルの ^{33}S -hfs の検出を試みている。その結果この β ラジカルの不対電子軌道は P 軌道であることが明らかにされた。しかしこの P 性は本来 100% 近くにならないといけないのにこの場合は 60% でかなり小さい値を示している。また β ラジカルの ^{33}S 核を含まないラジカルと含んだものの ESR スペクトルの強度比は 300:1 であり、この比は不対電子が 2 個の硫黄原子に等価に分布しているジスルフィドラジカルの理論強度比 270:1 に近い。これらの結

果からこの β ラジカルがダイマーカチオンであることが結論された。このことは ENDOR スペクトルと重水素置換試料の ESR スペクトルの観測結果により確められている。

この β ラジカルは硫黄ラジカル特異のかなり大きい g 値を示すが、この g 値の計算からダイマーカチオンの不対電子軌道は σ_{ss}^* でありその電子状態が明らかにされている。モノスルフィド化合物を照射した際にダイマーカチオンが生成するという予想は以前からなされていたが、本研究で極めて明快に証明されたものである。

これらの結果は硫黄化合物の放射線照射による複雑な初期過程生成物の構造と電子状態を明らかにした優れた成果であり、磁気共鳴分光学、放射線化学および放射線生物学の分野に寄与する処多大である。

なお、参考論文はペプシンのスピンラベル法による研究であり、これらを併せて申請者が豊富な経験と広い学識を備えていることがわかる。

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。