

氏 名	原 見 太 幹 はら み たい かん
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 600 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 54 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 物 理 学 第 二 専 攻
学 位 論 文 題 目	Mössbauer spectroscopic studies of ferric myoglobin single crystals in a small applied magnetic field (小さな外磁場における3価ミオグロビン単結晶のメスバウアー分光法による研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 東村武信 教授 寺本 英 教授 長谷川博一 教授 林 竹男

論 文 内 容 の 要 旨

呼吸その他重要な生理作用をになうヘムタンパク質の複雑な反応には、いろいろな種類のヘムタンパク質を通じて、共通してヘムと称される活性部位が主な役割を果し、とりわけ、ヘムの中の鉄イオンのd電子が大きくかかわっている。すなわち、ヘムタンパク質が生体内で反応を行ってヘム鉄の第6配位子が変化するに伴ない、鉄のd電子状態も変化し、変化に富んだ磁性を示す。近年、ヘムタンパク質の生物活性の起因を明らかにするため、ヘム鉄の電子状態を各種分光法を用いて詳しく調べていくことが、一つの流れとなっている。

申請者の論文は、鉄3価状態のミオグロビンの各種誘導体につき、その中のヘム鉄のメスバウアースペクトルを測定し、鉄原子核に直接働く磁気超微細相互作用、電気四極子相互作用を調べ、鉄イオンのd電子の状態と、それに対する配位子の影響とを詳しく論じたものである。

ヘムタンパク質の最も典型的な基礎物質としてミオグロビンを取りあげ、メト型ミオグロビン、ミオグロビンフッ化物、ミオグロビンアザイドの3種類につき、それぞれ単結晶を作成し、小さな外磁場をかけてそのメスバウアー吸収スペクトルを測定している。そしてその結果を、X線構造解析より明らかにされている分子構造の知見の上にたって、配位子場近似を用いて解析し、各化合物における内部磁場、電場勾配テンソルを求めている。本論文の特徴は、すべて単結晶を用いて測定、解析していることであって、従来明らかになっていなかったところの各相互作用の異方性についての知見を得たところにある。その主な結果は次のようである。

1) メト型ミオグロビンとフッ化物とでは、内部磁場がそれぞれ 480 kOe, 510 kOe, 電気四極子相互作用の大きさは 1.1 mm/sec, 0.7 mm/sec であって、鉄イオンは3価高スピン状態を示す。超微細相互作用の異方性はわずか5%, 4%程度であって、等方的フェルミ接触項がこの相互作用の大部分をしめる。最大電場勾配主軸の方向はヘム面に垂直で、非対称定数が零であるところより、ヘム面内の配位子場は等方的であると認められる。

2) アザイド化合物では、内部磁場は約 100 kOe で、鉄イオンは低スピン状態を示す。電気四極子相互作用の大きさは -2.1 mm/sec で、非対称定数は 0.4 である。最大電場勾配主軸の方向はヘム面内にあり、かつアザイドの配位方向とほぼ一致する。鉄イオンの配位子場は、アザイドの配位によって対称性が斜方晶系より低くなり、ヘム面に垂直な軸の回りの 180° 回転対称のみをもつ単斜晶系となっている。今までの常磁性共鳴吸収の結果のみでは g テンソルの主軸の方位が一意的には得られなかったが、このメスバウアー測定の結果によってこれを一意的に決定し得た。

以上の結果は申請者がはじめて単結晶を用いて実験的に見出したものであって、今後、ミオグロビンのみならず、他のヘムタンパク質の研究に新しい課題を与えている。参考論文のうち 6 篇はヘムタンパク質に関するものであり、参考論文 3 はヘム酵素の触媒機能の過程で見られる基質との反応中間体の電子状態を取扱って、そのメスバウアースペクトルより、過酸化物との反応中間体ではヘム鉄は 4 価になっていて低スピン状態の一重項が基底状態であることをたしかめている。参考論文 1, 2, 5, 6 はヘムタンパク質の酸素分子および一酸化炭素分子との結合とその光解離反応について、メスバウアー分光の結果から論じているものである。

論文審査の結果の要旨

ヘムタンパク質は生体内で酸素を運搬、貯蔵するヘモグロビン、ミオグロビン、また、酸化、還元、過酸化物の分解を触媒する酵素（チトクロム類、ペルオキシダーゼ、カタラーゼなど）などとして知られ、共通してヘムと呼ばれる活性部をもち、鉄イオンがその生物機能に重要な役割を果している。この活性中心の構造、とくにヘム鉄の電子状態と生物機能との関係を明らかにするため、従来の生化学的方法に加えて物理的手法が意欲的に採用され、生物活性の電子論的取扱いを目指した多くの研究がある。磁化率、ESR、NMR などの磁氣的測定はこの流れに沿うものであり、古くは 1936 年の Pauling らの研究にさかのぼる。ヘムタンパク質の場合、その生物活性を担うのは鉄イオンであり、活性中心の電子状態を直接にかつ選択的にひき出す研究手法としては、活性部位にある原子核をプローブとするのが有利な方法である。

申請者が利用したメスバウアー分光法は、 ^{57}Fe 原子核をプローブとして鉄イオンの電子状態、とくに d 電子状態、磁気超微細相互作用、電気四極子相互作用、異性体シフトを通して明らかにするのに有効である。メスバウアー分光法の生体物質への応用、とくにヘムタンパク質の研究は 1960 年代前半からすでに始められてきたが、試料は凍結溶液または多結晶であった。そのため、メスバウアースペクトルから各種相互作用の大きさは求まるが、その異方性は求めることができず、X 線構造解析より明らかな分子構造の知見の上にならざるに議論することができなかった。

申請者はヘムタンパク質の最も基本的な物質であるミオグロビンの鉄 3 価状態の単結晶を用いて、配位子の異なる誘導体を調製してメスバウアースペクトルを測定し、各種相互作用の異方性を解析し、ヘム近傍の構造との関係を議論して次のことを明らかにした。1) 配位子として水のついたメトミオグロビンとそのフッ化物とにおいては、高スピン状態に特徴的な約 500 kOe の内部磁場と、約 1 mm/sec の電気四極子相互作用が観測された。磁気超微細相互作用は異方性が僅少であって、等方的なフェルミ接触項でもって説明できる。電場勾配テンソルの最大主軸の方位はヘム面に垂直で、ヘム面内には異方性がなく、配

位子場は軸対称である。2) 配位子としてアザイドのついたアザイド化合物では、低スピン状態として特徴的な約 100 kOe の内部磁場とし、 -2.1 mm/sec の大きさと 0.4 の非対称定数とをもつ電気四極子相互作用とが観測された。電場勾配テンソルの最大主軸の方位はヘム面内であって、アザイドの配位の方向に近い。鉄イオンの配位電場はアザイドによって対称性が低下して単斜晶系になり、ヘム面に垂直な 2 回対称軸をもつ。

これらの結果は、従来のメスバウアー分光学的研究では得られなかった情報を提供したものであって、X線構造解析より得られている 3 次構造とくに鉄周辺の配位子との構造を電子構造と結びつけている点で貴重な知見である。生体内では生理環境の変化に従ってヘムタンパク質はいろいろと配位子を変換し、またそれに応じて諸種の生理学的反応が行われるが、その機構を微視的に解明していくために申請者の論文は重要な資料を提供している。またこの論文はヘムタンパク質に関する他の実験的研究や、配位子場理論、分子軌道法計算の進展にも寄与するところが多く、高く評価することができる。

参考論文 7 篇のうち 6 篇はいずれもヘムタンパク質のメスバウアー効果に関するものであって、ヘムタンパク質の酸素分子および一酸化炭素分子との結合体の電子状態、その光解離反応、さらにまたヘム酵素の反応中間体の電子状態などについてメスバウアー分光の測定結果から論じていて、いずれも労作である。

要するに申請者の論文は、ヘムタンパク質の電子状態に重要な微視的情報をもたらしたものであって、同時に、単結晶のメスバウアー分光法の有効性を実証して、今後のメスバウアー分光法の進むべき方向に指針を与えたものであり、この分野の進歩に寄与するところが多い。

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。