非　　へ　　ム　　鉄

大　倉　一　郎*・北　島　信　正*

Non-Hemoprotein.

Ichiro OKURA* and Nobumasa KITAJIMA*

Non-hemoproteins play important roles in many kinds of organisms as electron carriers and catalysts.

The following characteristics of the non-hemoproteins exclude hemoproteins: (1) sulfur displaceable as sulfide on acidification (acid-labile sulfur), (2) absorption bands (presumably due to charge transfer) between 350 and 600 nm, (3) the capability of transferring electrons at a low oxidation-reduction potential, and (4) paramagnetism in one or more oxidation states.

Recent studies of physicochemical properties are reviewed in this article, since physicochemical and crystallographic studies as well as iron sulfur complex synthesis as non-hemoprotein models have played key part in our present understanding of non-hemoproteins.

非へム鉄は光合成, 呼吸, 代謝過程において電子伝達体, 各種触媒として生体における重要な機能を担っている。

へム鉄については従来よりぼう大な研究があるが, 非へム鉄は最近とくに急速に研究が進み, その性質が明らかにされてきている。とくに ESR, メスバウアー, EXAFS などの分析機器を用いた活性点に関する研究の発展がめざましい。また非へム鉄モデルとしての鉄・硫黄クラスター錯体合成の成功は非へム鉄の理解に大きく貢献している。

ここではとくに最近の研究の中で非へム鉄の物理化学的性質を中心に鉄・硫黄クラスター錯体の性質も含めて解

説する。また, 非へム鉄の歴史的研究はすでに優れた成書¹⁾ 総説²⁾ があるので参照していただきたい。

1. はじめに

鉄タンパクは生体中で電子伝達体あるいは酸化還元触媒としての機能を有し, 生理的にきわめて重要な光合成, 呼吸, 代謝, 窒素固定などの反応に関与している。

鉄タンパクは図1のように分類することができる。ヘモグロビン, チトクローム C などはへムタンパク(Hemoprotein)と呼ばれ, 鉄はポルフィリンあるいはコリン環に結合している。一方, ペプチド鎖の構成アミノ酸の一種であるシステイン残基のチオラート基に直接鉄が結

Fig. 1 Classification of iron-containing proteins.

* 東京工業大学工学部化学工学科 ()

* Department of Chemical Engineering, Tokyo Institute of Technology ()

合した一群の鉄タンパクがあり、これらは前のヘムタンパクに対し、非ヘム鉄タンパクまたは単に非ヘム鉄 (Non-hemoprotein) と呼ばれている。

非ヘム鉄の多くは鉄と等モルの不安定硫黄 (Labile sulfur) を含んでいるため鉄・硫黄タンパク (Iron-sulfur protein) とも呼ばれる。この硫黄は酸性雰囲気中で容易に分解し硫化水素を発生するためこの名がある。

非ヘム鉄は種々の生体に見出され、現在では100種以上のものが単離され、4つのカテゴリーに分類されている。すなわち、1. ルブレドキシン、2. フェレドキシン、3. 高電位鉄・硫黄タンパク、4. フラビン-鉄・硫黄タンパク、モリブデン-鉄・硫黄タンパクなどの複合タンパクである。鉄と不安定硫黄はタンパク中で特定の構造をもつクラスターを形成しているため、クラスターの種類に基づいて非ヘム鉄を分類することも可能である。しかし複合タンパクや高分子量の非ヘム鉄ではいかなるクラスターが含まれているか不明なものも少なくない。そこで本稿では

上の分類に従い、代表的な非ヘム鉄を選んでその性質を述べることにする。

非ヘム鉄に含まれるクラスターに類似の錯体を *in vitro* に合成し、鉄の配位状態、電子的性質などの知見から非ヘム鉄を理解しようとするいわゆるモデル錯体の研究が近年さかに行われているので、この点についても最後に触れる。

2. 非ヘム鉄の性質

2.1. 非ヘム鉄の種類 非ヘム鉄は前に示した4つのカテゴリーに分類できるが、機能別に見ると次のように分けられる。すなわち、ルブレドキシン、フェレドキシン、高電位鉄・硫黄タンパクの3種の電子伝達体、およびドロゲナーゼ、ニトロゲナーゼ、キサンチンオキシダーゼなどの多種類の酵素である。電子伝達体としての機能を有する非ヘム鉄はポリペプチド中に鉄と不安定硫黄しか含んでいない (ただし、ルブレドキシンは不安定

Table 1 Rubredoxins, ferredoxins and high potential iron-sulfur proteins.

Protein	Typical source	RMM* x 10 ⁻³	Fe-S	E _m ** mV	References
1-Center Rubredoxin	<i>Clostridium pasteurianum</i>	6	[Rd]	- 60	3
2-Center Rubredoxin	<i>Pseudomonas oleovorans</i>	19	2 [Rd]		4
Desulforedoxin	<i>Desulfovibrio gigas</i>	7.6	2 Fe	- 35	5
2-Fe ferredoxin (Plant)	Spinach	10.5	[2 Fe-2 S*]	-420	6
2-Fe ferredoxin (Blue-green algae)	<i>Spirulina platensis</i>	10.5	[2 Fe-2 S*]	-390	7
2-Fe ferredoxin	<i>H. halobium</i>	15	[2 Fe-2 S*]	-345	8
2-Fe ferredoxin	Adrenal mitochondria	12	[2 Fe-2 S*]	-270	9
2-Fe ferredoxin	<i>Ps. putida</i>	12.5	[2 Fe-2 S*]	-240	10
2-Fe ferredoxin	<i>C. pasteurianum</i>	25	[2 Fe-2 S*]	-300	11
Fe-S protein I	<i>Azotobacter vinelandii</i>	21	[2 Fe-2 S*]		12
Fe-S protein II	<i>A. vinelandii</i>	24	[2 Fe-2 S*]		12, 13
HPIP	<i>Chromatium vinosum</i>	9.5	[4 Fe-4 S*]	+350	14, 15
4-Fe ferredoxin	<i>Bacillus polymyxa</i>	8			16
	<i>Phodospirillum rubrum</i>	14.5	[4 Fe-4 S*]		17
6-Fe (?) ferredoxin I (Fe-S protein III)	<i>A. vinelandii</i>	14.5	6-7 Fe, S*	+340 -420	18
Ferredoxin IV	<i>R. rubrum</i>	14	8 Fe, 8 S*	+355 -380	19
8-Fe ferredoxin	<i>C. pasteurianum</i>	6	2 [4 Fe-4 S*]	-400	20
	<i>Peptococcus aerogenes</i>				21
8-Fe ferredoxin	<i>Chr. vinosum</i>	10	2 [4 Fe-4 S*]	-490	15
Ferredoxin II	<i>A. vinelandii</i>			-460	22
Ferredoxin I	<i>D. gigas</i>	18	3 [4 Fe-4 S*]	-455	23
Ferredoxin II	<i>D. gigas</i>	24	4 [4 Fe-4 S*]	-130	23
Fe-S protein	Mitochondria outer membrane		[2 Fe-2 S*]	+ 75	24

*RMM: relative molecular weight, **E_m: midpoint reduction potential.

硫黄を含まない)が、種々の酵素では鉄、不安定硫黄以外にフラビン、ヘム、チアミンピロリン酸、モリブデンなどの補酵素を有するものが多い。これらは複合-鉄・硫黄酵素と呼ばれる。コハク酸脱水素酵素やニトロゲナーゼはこれに属す。ヒドロゲナーゼやアコニターゼなどの酵素は鉄と不安定硫黄のみを含むのでとくに単純-鉄・

硫黄酵素と呼ばれ区別されることもある。

現在までに知られている主な電子伝達機能を有する非ヘム鉄を表1に、複合-鉄・硫黄酵素を表2に示す。表1に示したタンパクは比較的分子量で多くは一次構造が知られている。これに対し、表2に示した複合-鉄・硫黄酵素は高分子量であり、構造不明なものが多い。

Table 2 Conjugated iron-sulfur proteins and iron-sulfur enzymes.

Protein, Function	Typical source	RMM, Subunit structure, $\times 10^{-3}$	Fe-S content	Other groups	References
Simple iron-sulfur proteins					
Hydrogenase (EC 1.18.3.1) $2\text{H}^+ + \text{Fd}_{\text{red}} \rightarrow \text{H}_2 + \text{Fd}_{\text{ox}}$	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	50	3 [4 Fe-4 S]?	—	25
Hydrogenase (EC 1.12.99-) $\text{H}_2 + \text{acceptor} \rightarrow 2\text{H}^+ + \text{reduced acceptor}$	<i>Chromatium vinosum</i> <i>Rhodospirillum rubrum</i>	98 66	[4 Fe-4 S] [4 Fe-4 S]	— —	26 27
Glutamine amidoribosyl-transferase (EC 2.4.2.14) 2-methoxybenzoate o-demethyl monooxygenase, Fe-S component (EC 1.14.99.15)	Human <i>B. subtilis</i> <i>Pseudomonas putida</i>	2 $\times$ 50 or 4 $\times$ 50 126 Trimer or tetramer	$\sim 3\text{ Fe}, 2\text{ S}$ 2-3 [2 Fe-2 S]?	—	28 29 30
Aconitase (EC 4.2.1.3) Citrate $\rightarrow$ isocitrate	Beef heart	89	2 Fe, 2 S	—	31
Fe-S and flavin					
Hydrogenase (EC 1.12.1.2) $\text{H}_2 + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	<i>Alcaligenes eutrophus</i>	200	12 Fe, 12 S 2 [4 Fe-4 S] [2 Fe-2 S]	2 FMN	32
Succinate dehydrogenase (Complex II) (EC 1.3.99.1) Succinate + UQ $\rightarrow$ Fumarate + UQH ₂	Mitochondria, and aerobic and photosynthetic bacteria	97 (70+27)	2 [2 Fe-2 S] + [4 Fe-4 S] ^{2+;3+}	FAD covalently bound	33 34 35
NADH dehydrogenase (Complex I) (EC 1.6.99.3) NADH + H ⁺ + UQ $\rightarrow$ NAD ⁺ + UQH ₂	Mitochondria, aerobic and photosynthetic bacteria		$\sim 16\text{ Fe},$ S per flavin 2 [2 Fe-2 S] 3 [4 Fe-4 S]?	FMN	36
ETF dehydrogenase	Beef heart mitochondria	66	[4 Fe-4 S] ^{1+;2+}	FAD	37 38
Fe-S + Molybdenum					
Nitrate Reductase (EC 1.7.99.4)	<i>Paracoccus denitrificans</i>	320	20 Fe, S	1.5 Mo	39
	<i>E. coli</i>	220	2 Fe-S centres	<1 Mo	40
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	260	8-12 Fe, 8 S	<1 Mo	41
Ferredoxin: CO ₂ reductase (EC 1.2.7-)	<i>C. pasteurianum</i>	118	24 Fe, 24 S	1 Mo	42
Nitrogenase (EC 1.18.2.1) $\text{N}_2 + 3\text{Fd}_{\text{red}} + \text{nATP} \rightarrow$ $2\text{NH}_4^+ + 3\text{Fd}_{\text{ox}} + \text{nADP} + \text{nP}_i$	<i>C. pasteurianum</i> <i>A. vinelandii</i> <i>K. pneumoniae</i>	MoFe Protein: 220 (2 $\times$ 50 + 2 $\times$ 60) Fe protein: 55	$\sim 30\text{ Fe}, 30\text{ S}$ [4 Fe-4 S]	2 Mo	43, 44 45, 46
Mo-Fe-S protein	<i>D. gigas</i>	120	$\sim 6 [2\text{ Fe-2 S}]$	Mo	47
Mo-Fe-S protein	<i>D. africanus</i>	112	20 Fe, 20 S [4 Fe-4 S] ^{2+;3+}	5-6 Mo	48

Fig. 2 Atomic arrangements in the one-iron (rubredoxin, Rd) two-iron and four-iron clusters, and the proposed three-iron cluster*

*R. Cammack, *Nature*, **286**, 442 (1980) より引用

非ヘム鉄は鉄と不安定硫黄およびシステイン残基とがクラスターを形成しており、その構造は基本的に 4 つの型に限定されている (図 2)。ここでは不安定硫黄を S* で示してある。

どの型のクラスターが含まれているかを次のようにして決定することができる。まず (I) 型のクラスターは不安定硫黄を含まないので、酸性雰囲気でも硫化水素の発生は見られず容易に他と区別される。(IV) 型の例は少なく、2, 3 の例が報告されているにすぎないので実際には (II) 型と (III) 型を区別すればよいことになる。

よく用いられる方法として電子スペクトル法²⁴⁾と ESR 吸収法^{15,49)}とがある。電子スペクトル法では非ヘム鉄にチオールを添加するとチオール配位子を持つ鉄・硫黄クラスターができることを利用し、この電子スペクトルと同じチオールを配位子とする合成クラスターのスペクトルとを比較する方法である。この方法は試料をチオールで処理するため試料の再使用ができないことが欠点である。ESR 測定は液体ヘリウム温度で行う必要がある。この方法は (II) の酸化型が ESR 不活性であり、還元型では $g = 1.94$ 付近に特徴的な ESR 吸収が現われることを利用している。メスバウアースペクトルの測定による判別方法^{15,50)}もあるが、高濃度の ^{57}Fe を含む試料を調製する必要があり一般的な方法とはいえない。最近 Stephens ら⁵¹⁾は CD スペクトルを測定することにより両者の区別を行っている。少量の試料で容易に測定できるので便利な方法となろう。このような方法で決められた鉄・硫黄クラスターの型を表 1、表 2 に示してある。タンパク 1 分子中に鉄・硫黄クラスターが一種類であるとは限らず、数種のクラスターが共存している場合もあるので注意する必要がある。

3. 非ヘム鉄の性質

3.1. 電子伝達体

3.1.1. ルブレドキシン (Rubredoxin) ルブレドキシンは種々の光合成細菌、硫酸塩還元菌などから 10 種以上のものが単離されているが⁵²⁾、その機能は明らかではな

い。唯一 *Pseudomonas oleovorans* から単離されたルブレドキシンが電子伝達体として脂肪酸の ω 水酸化反応に関与していることが知られている⁴⁾。

ルブレドキシンは一般に分子量が小さく (表 1 参照)、酸化状態で鉄-硫黄結合の電荷移動による吸収を 490 および 380 nm 付近に持つ赤色タンパクである。*Clostridium pasteurianum* より単離されたルブレドキシンは図 3 に示す構造で、鉄はポリペプチド鎖の 4 つのシステイン残

Fig. 3 Diagram of rubredoxin from *Clostridium pasteurianum*.

基のチオラート基に配位しており、結晶場はほとんど歪みのない正四面体になっている。初期の 2 Å 分解能の X 線解析からは 4 個の鉄-硫黄結合の中 1 個の結合距離が短いと報告されていた^{53,54)}が、その後 EXAFS の結果⁵⁵⁾および 1.2 Å の分解能の X 線解析の結果⁵⁶⁾から 4 個の鉄-硫黄結合距離はすべて等しいとされている。構造が X 線解析によって判明しているのは唯一種のみであるが、数種類のものについてはアミノ酸配列が決定されている (表 3)。いずれも非常に類似したアミノ酸配列をしている。とくにシステイン残基の周辺は Cys-X-Y-Cys 型の配列をしており、このようなグループが 2 ケ所に存在している。このため種類によらず類似の立体構造をした鉄・硫黄クラスターが含まれていると考えられている。

酸化型ルブレドキシンは Fe (III) イオンによる $g = 4.3$ の特徴的な ESR 吸収を示す⁵⁵⁾。酸化還元ポテンシャルは $E_0'(\text{pH } 7.0) = -57 \text{ mV}$ であり⁵⁵⁾、酸化状態、還元状態にはそれぞれ 2 価および 3 価の鉄が含まれており、いずれも高スピン状態である^{60,61)}。

Table 3 Sequences of 1Fe-1S proteins*.

Organism	
(1) <i>P. elsdenii</i>	met-asp-lys-tyr-glu-cys-ser-ile-cys-gly-tyr-ile-tyr-asp-glu-ald-glu-gly-
(2) <i>M. aerogenes</i>	met-gln-lys-phe-glu-cys-thr-leu-cys-gly-tyr-ile-tyr-asp-pro-ala-leu-val-
	5 10 15
(1)	asp-asp-gly-asn-val-ala-ala-gly-thr-lys-phe-ala-asp-leu-pro-ala-asp-trp-
(2)	gly-pro-asp-thr-pro-asp-gln-asp-gly-ala-phe-glu-asp-val-ser-glu-asn-trp-
	20 25 30 35
(1)	val-cys-pro-thr-cys-gly-ala-asp-lys-asp-ala-phe-val-lys-met-asp
(2)	val-cys-pro-leu-cys-gly-ala-gly-lys-glu-asp-phe-glu-val-tyr-glu-asp
	40 45 50

*文献 57 より引用

ルブレドキシンには1分子中に鉄を1個含む単核のものと2個含む複核のものが発見されている。複核のルブレドキシンでもESR吸収が単核のものと一致することから、鉄は単核の場合と同じ配位状態でそれぞれ独立に存在すると考えられている。しかし最近 *Desulfovibrio gigas* より単離された複核の非ヘム鉄には不安定硫黄がなく、可視領域にルブレドキシンに似た吸収を有するにもかかわらず複雑なESR吸収を示すことから鉄イオン同士の相互作用が考えられ、従来のルブレドキシンとは異なるタイプの非ヘム鉄といえよう⁶²⁾。

3.1.2. フェレドキシン (Ferredoxin) フェレドキシンは1962年 Mortenson⁶³⁾により細菌由来の非ヘム鉄について名付けられた。現在では動物のミトコンドリア、緑色植物由来のものも含められている。

フェレドキシンはpH 7.0において低い酸化還元電位を示し、還元型でg値2以下 (g = 1.94付近)のESR吸収を示す。鉄原子と同数の不安定硫黄を含み、2Fe-2S*型、3Fe-3S*型、4Fe-4S*型いずれかのクラスターを有している。植物由来のフェレドキシンは主に2Fe-2S*型であり、細菌由来のものは4Fe-4S*型が多い。

2Fe-2S*型の酸化型フェレドキシンは3価の鉄2原子を含み、両者が互にスピンを打ち消し合い反強磁性となっているため低温においてもESR吸収は観測されない。これを還元すると1原子の鉄が2価に還元され、低温でg = 1.94付近にESR吸収が現われる。

メスbauerスペクトルの測定は鉄原子の状態を調べるにはもっとも適した方法であるが、⁵⁷Fe高濃度の試料を調製する必要がある。調製には再構成の方法⁶⁴⁻⁶⁹⁾を用いる。まず次の反応式で示すように非ヘム鉄より鉄と不安定硫黄を取り除き、クラスターの抜け殻であるアポタンパクを作る。次にこのアポタンパクに2-メルカプトエタノール、⁵⁷Feを高濃度を含む硫酸第一鉄および硫化ナトリウムを加え元のタンパクを再構成する。

非ヘム鉄 $\xrightarrow{\text{CCl}_3\text{COOH}}$ アポタンパク

アポタンパク $\xrightarrow{{}^{57}\text{FeSO}_4, \text{Na}_2\text{S}, \text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}}$ 再構成タンパク

このようにして調製した2Fe-2S*型フェレドキシンの酸化型、還元型についてのメスbauerスペクトルを図4に示す。酸化型ではアイソマーシフト δ_1 (スペクト

Fig. 4 Mössbauer spectra of *Scenedesmus ferredoxin*, enriched with ⁵⁷Fe, at 195°K : (a) oxidized, 1.75 mM ; (b) reduced, 1.9 mM*

*K. K. Rao *et al.*, *Biochem. J.*, 122, (1971) より引用

ルの中心の線源相対速度零からのずれ)は0.22 mm/sであり、四重極分裂 ΔE_1 (二本のピークの間隔)は0.59 mm/sと得られる。還元型では酸化型の吸収とは別に強度の等しい新しい一組の吸収が加わり、この吸収のアイソマーシフト、四重極分裂はそれぞれ $\delta_2=0.56$ mm/s, $\Delta E_2=2.75$ mm/sである。これらの数値および吸収強度から次の結論が導びける。酸化型のフェレドキシンは2個の高スピン3価の鉄原子を有し、反強磁性である。還元型では1個の高スピン3価の鉄原子と1個の高スピン2価の鉄原子を有し、両者間の電子交換は起らず、電子は局在

Fig. 5 Proposed model for the 2 Fe-2 S* center of the two-iron ferredoxins*.

*K. K. Rao *et al.*, *Biochem. J.*, 122, 264 (1971) より引用

化している。すなわち活性中心のスピンの状態を図5のように画くことができる⁷¹⁾。

4 Fe-4 S* 型のフェレドキシンは数多く知られている。これらのフェレドキシンの中には2~4個の4 Fe-4 S* 型クラスターを含むものもある。X線解析されている唯一の *Peptococcus aerogenes* 由来のフェレドキシンは1分子中に2個のクラスターを有し(図6), その周辺は疎

Fig. 6 Fe, and S positions in molecule of *P. aerogenese* ferredoxin. Fe, ●; labile S, ○; cysteine S, ⊗*.

*文献72より引用

水場になっていると考えられている。酸化型は2 Fe(II) + 2 Fe(III)の電子状態をもち、反強磁性でESR不活性であるが還元すると3 Fe(II) + 1 Fe(III)となり、 $g = 2.0$ 付近にESR吸収が現われる。メスバウアースペクトルの測定から4 Fe-4 S* 型は2 Fe-2 S* 型と異なり、酸化型と還元型とで異なる2組の吸収は現われず、アイソマーシフト、四重極分裂のみが変化することから電子が4個の鉄に非局在化していることが知られている⁷³⁾。

3 Fe-3 S* 型クラスターを有する非ヘム鉄は *Azotobacter vinelandii* より単離されたフェレドキシン中に最近見出されている⁷⁴⁾ が、くわしい性質は未だ不明である。

3.1.3. 高電位鉄・硫黄タンパク(High potential iron-sulfur protein) 高電位鉄・硫黄タンパク(HPIP)は活性

点に4 Fe-4 S* 型のクラスターを含んでいることはフェレドキシンと同じであるが、酸化還元電位がフェレドキシンの-200~-400 mV に対し、+350 mV と高い値を示すのでこの名称がある。

フェレドキシンと同じ構造のクラスターを持ちながらこのような性質の差が現われるのは、クラスターの異なる酸化状態によるものとされている。HPIPは酸化型で1 Fe(II) + 3 Fe(III)の電子状態をしており、還元すると2 Fe(II) + 2 Fe(III)となり反強磁性のためESR不活性となる。HPIPの還元型が4 Fe-4 S* 型フェレドキシンの酸化型に相当する。

HPIP, フェレドキシンの酸化状態を考えると4 Fe-4 S* 型のクラスターは3つの酸化状態を取ることになる。3状態説はCarterら⁷⁵⁾により図7のように説明されている。 $[\text{Fe}_4\text{S}_4\text{Cys}]^-$ はもっとも高い酸化状態であり酸化型

Fig. 7 The three-state hypothesis for relative oxidation states of the Fe_4S_4^* cluster in iron-sulfur proteins. The "paired spin" state, "C", occurs in both reduced HPIP and oxidized ferredoxin. It is experimentally indistinguishable in the two proteins*

*文献75より引用

HPIPの状態である。 $[\text{Fe}_4\text{S}_4\text{Cys}]^{2-}$ は還元型HPIPおよび酸化型フェレドキシンの状態であり、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4\text{Cys}]^{3-}$ は

Table 4 Mössbauer parameters of iron-sulfur proteins. The isomer shifts are converted to values relative to metallic iron*.

	δ (mm/sec)	ΔE_Q (mm/sec)	Temp. (°K)	Proposed center	Reference
Oxidized adrenodoxin	0.26	0.63	77	2 Fe(III)	76
	0.29	0.62	4.2		76
Oxidized spinach ferredoxin	0.27	0.65	4.2	2 Fe(III)	77
Oxidized parsley ferredoxin	0.28	0.66	4.2	2 Fe(III)	77
<i>Clostridium</i> paramagnetic protein	0.28	0.62	4.2	2 Fe(III)	77
<i>Azotobacter</i> iron-sulfur protein I	0.31	0.73	4.2	2 Fe(III)	77
<i>Azotobacter</i> iron-sulfur protein II	0.29	0.71	4.2	2 Fe(III)	77
Lauth's Violet oxidized Kpl protein of nitrogenase	0.37	0.75	77	2 Fe(III)	78
	0.35	0.90	4.2		78
Oxidized <i>C. pasteurianum</i> ferredoxin	0.43	0.91	77	2 Fe(II)+2 Fe(III)	79
	0.44	1.08	4.2		79
Reduced <i>C. pasteurianum</i> ferredoxin	0.57	1.25	77	3 Fe(II)+1 Fe(III)	79
	0.58	1.54	4.2		79
Oxidized <i>Chromatium</i> HPIP	0.31	0.80	77	1 Fe(II)+3 Fe(III)	80
Reduced <i>Chromatium</i> HPIP	0.42	1.13	77	2 Fe(II)+2 Fe(III)	80
	0.44	1.16	4.2		80
Super-reduced <i>Chromatium</i> HPIP	0.59	1.28	77	3 Fe(II)+1 Fe(III)	81

*T. Suzuki *et al.*, *J. Biochem.*, **80**, 799 (1976) より引用

還元型フェレドキシンおよび超還元型 HPIP の状態である。

メスバウアースペクトルからもこの3状態説が支持されており、メスバウアーパラメーターから得られる各種非へム鉄の酸化状態をまとめて表4に示す。表には先に述べたフェレドキシンおよび後述する酵素アコニターゼも共に示してある。

3.2. 単純鉄・硫黄酵素(Simple iron-sulfur enzyme)

3.2.1. ヒドロゲナーゼ (Hydrogenase) ヒドロゲナーゼは種々の嫌気性バクテリア中に含まれプロトン還元による水素発生反応を触媒する酵素である。以下の反応式で示す3種の電子供与体が知られており、ヒドロゲナーゼも電子供与体の種類に従って3種に分類されている。

- 1) フェレドキシン (還元型) + H^+
→ フェレドキシン (酸化型) + $1/2 H_2$
- 2) チトクローム C_3 (還元型) + H^+
→ チトクローム C_3 (酸化型) + $1/2 H_2$
- 3) $NADH + H^+ \rightarrow NAD + 1/2 H_2$

筆者らはチトクローム C_3 を電子供与体とする *Desulfovibrio vulgaris* (Miyazaki 型) より抽出、精製したヒドロゲナーゼについて活性点に関する研究を行った⁸²⁻⁸⁵⁾。含まれる鉄・硫黄クラスターの型を決定するには、

フェレドキシンの場合と同じ手法を用い、フェニルメルカプタンあるいはトプチルメルカプタンを作用させ電子スペクトルを測定した。その結果4 Fe-4 S*型のクラスターがヒドロゲナーゼ1分子当たり2個存在することが判明した。

他のバクテリアからのヒドロゲナーゼについて得られている情報と共にクラスターの型をまとめて表5に示す。いずれの場合にも4 Fe-4 S*型のクラスターは必ず含まれている。再構成も可能であるが、アポタンパクが不安定なため再構成される割合は少ない。

ヒドロゲナーゼは重金属塩を添加すると被毒される。たとえば、塩化第二水銀を添加すると添加量に伴い活性は減少する。この際、鉄イオンが溶液中に検出される。このヒドロゲナーゼ1分子には8個の鉄原子が含まれているのでヒドロゲナーゼ中の残留鉄原子数と活性との関係をプロットすることができる(図8)。鉄原子が抜けるに従い活性は直線的に減少し、6個の鉄原子が残っているにもかかわらず2原子の鉄が抜けると活性は零となる。このことは8個の鉄原子がすべて同等に存在しているのではなく、8個の中2個の鉄原子が抜け易く、活性点数はヒドロゲナーゼ1分子中2個存在することを示している。鉄原子が抜けるに従い水銀が酵素中に取り込まれる(図8、○印)。抜け出す鉄原子数と水銀の原子数

Table 5 Properties of hydrogenase.

Organisms	<i>Alcaligenes eutrophus</i> H 16	<i>Clostridium pasteurianum</i>	<i>Desulfovibrio vulgaris</i> (Miyazaki)	<i>Desulfovibrio gigas</i>
Location	Cytoplasm	Cytoplasm	Membranes	Periplasm
Physiological role	H ₂ uptake	H ₂ evolution	H ₂ uptake	H ₂ uptake
Electron carrier	NAD	Ferredoxin	Cytochrome C ₃	Cytochrome C ₃
Fe/mol	12	12	8	12
Acid-labile S*/mol	12	12	8	12
Fe-S center	2× [4 Fe-4 S*] 2× [2 Fe-2 S*]	3× [4 Fe-4 S*]	2× [4 Fe-4 S*]	3× [4 Fe-4 S*]

Fig. 8 Relation between the hydrogenase activity and the amount of the iron atoms (Δ) and mercury atoms ($\circ$) per enzyme molecule.

とは 1 対 1 の対応関係にあり、被毒の原因は鉄と水銀との置換によるものと考えられる。

ヒドロゲナーゼに含まれる 4 Fe-4 S* 型のクラスターはフェレドキシン、HPIP に含まれるものと同一である。しかし、ヒドロゲナーゼは水素発生の触媒として作用し、他は電子伝達体としての機能を有する。この違いはこれらのクラスターを取り囲んでいるポリペプチド鎖の性質の違いによるものと思われるが、原因はまったくわかっていない。

3.2.2. アコニターゼ (Aconitase) 生物に取り込まれた栄養物はアセチルコエンザイム A に一度変換された後、ミトコンドリア中でトリカルボン酸サイクルによって分解される。このうちクエン酸からイソクエン酸への反応を触媒するのがアコニターゼである。

この反応はシスアコニット酸を経由していることがわかっており、シスアコニット酸の二重結合に水の H と OH

が互にトランスの位置で付加することによりクエン酸とイソクエン酸が生成する⁸⁶⁾。

イースト菌の一種である *Candida lipolytica* より得られたアコニターゼは 2 個の高スピン状態の 3 価鉄が対になって反強磁性になっていることがメスバウアースペクトルの測定で明らかになった (表 4 参照)。2 Fe-2 S* 型フェレドキシンと類似の構造をもつクラスターが含まれていると考えられている⁸⁷⁾。

酵素の活性点の構造は明らかにされていないが、鉄原子が活性に必須であることはアコニターゼのアポタンパクが不活性であり、このアポタンパクに 2 価の鉄イオン、硫化ナトリウム、メルカプトエタノールを加えて再構成した酵素が活性を有することから明らかにされている⁸⁸⁾。また、Fe (II) がクエン酸と安定なキレート化合物をつくるためアコニターゼ中の Fe (II) にクエン酸が立体特異的に配位し、不斉反応が制御されるという反応機構が提出されている⁸⁹⁾。

この他単純鉄・硫黄酵素としてはアルカン類および脂肪酸を水酸化する ω -水酸化酵素、*Glutamine amidoribosyl transferase* と *O-dimethyl monooxygenase* が知られている。

3.3. 複合鉄・硫黄酵素 (Conjugated iron-sulfur enzyme)

3.3.1. コハク酸脱水素酵素 (Succinate dehydrogenase) コハク酸脱水素酵素はコハク酸を脱水素しフマル酸を生成するトリカルボン酸サイクル中の一反応を触媒する酵素である。この酵素は種々のバクテリアから単離されているが、*Rhodospirillum rubrum* より得られたものがもっともよく調べられている。

この酵素は鉄、不安定硫黄の他に補酵素としてフラビンアデニンヌクレオチドを FAD: 鉄: 不安定硫黄 = 1: 8: 8 の割合で含む典型的な複合鉄・硫黄タンパクである⁹⁰⁾。

コハク酸脱水素酵素は酸化状態では HPIP 型の ESR

吸収を示し、還元状態においては還元型 4 Fe-4 S* に帰因する $g = 2.03$, $g = 1.93$, $g = 1.91$ の吸収とフラビンセミキノラジカルと思われる $g = 2.006$ の吸収を与える⁹¹⁾。さらに詳細な ESR 研究から反応性の異なる 3 つの活性サイトの存在がわかっている^{92, 93)}。これらの酸化還元電位は異なり、それぞれ $S_1 = +50$, $S_2 = -160$, $S_3 = -380$ mV である。 S_1 および S_2 は大きなサブユニット (MW 60,000) に存在する 2 Fe-2 S* 型クラスターであり、 S_3 は小さいサブユニット (MW 25,000) に存在する 4 Fe-4 S* 型クラスターと考えられている。電子は S_1 に捕捉された後、フラビンを經由して S_3 に流れると推定されている。

3.3.2. トリメチルアミン脱水素酵素 (Trimethylamine dehydrogenase) トリメチルアミン脱水素酵素は次式の反応の触媒となる。

Methylotroph バクテリアより単離されたトリメチルアミン脱水素酵素は 1 分子中 4 Fe-4 S* 型クラスター 1 個と FAD 1 分子とを含んでいる。還元により FAD に依存する可視領域の吸収は消滅し、 $g = 2.035$, 1.925 , 1.85 の 4 Fe-4 S* 型の還元型フェレドキシンに特異的な ESR 吸収が現われ、前に述べたコハク酸脱水素酵素が HPIP 型であったのと対照的である。還元剤を過剰に添加すると電子スペクトル、ESR 吸収共に異常な吸収を示すことから、還元型 4 Fe-4 S* 型クラスターとフラビンセミキノンが相互作用していることが知られている⁹⁴⁾。

3.3.3. ニトロゲナーゼ (Nitrogenase) ニトロゲナーゼは根粒バクテリア、ラン藻などに含まれ、窒素固定能を有する酵素である。ニトロゲナーゼは鉄タンパクと呼ばれる 4 Fe-4 S* 型クラスターを含むサブユニットと鉄モリブデンタンパクと呼ばれるサブユニットからなり、モリブデンを含む複合-鉄・硫黄タンパクである。この酵素は本編で詳しく解説されているのでそちらを参照されたい。

複合-鉄・硫黄タンパクとしては他に二酸化炭素酸化還元酵素、キサンチンオキシダーゼなど多種類の酵素が知られているが、精製が確立されているものが少なく、未解決の点が多い。

4. 非ヘム鉄モデル

非ヘム鉄はすでに述べたようにその機能の多様性にもかかわらず、低い酸化還元電位を持ち、可視領域に特徴的な吸収を持つなど、共通した物理化学的性質を備えている。これは活性点が先に述べた 4 つの型のクラスター

に限定されているからである。このことは鉄の電子状態がおもに活性部クラスターの型で決められており、配位子であるポリペプチド鎖がこれに微妙な影響を及ぼしていると考えられる。そこで、非ヘム鉄中のクラスターと類似の構造を持つ錯体を合成し、その物理化学的性質を調べれば、酵素中の鉄・硫黄クラスターの性質をより良く理解できよう。以上の観点から、非ヘム鉄モデルとしての鉄・硫黄錯体の研究が近年活発に行われているので、ここでは主なモデル錯体について述べる。

ルブレドキシンの活性部位のモデルとしては錯体 $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{-O-xylyl})_2]^{2-}$ が研究されている^{95, 96)}。これは図 9

Fig. 9 $[\text{Fe}(\text{SPMe}_2)_2\text{N}]_2^{2-}$.

*R. H. Holm, *Acc. Chem. Res.*, 10, 428 (1977)
より引用

に示した構造をしており、ルブレドキシンの活性部位の構造に極めて近い。鉄-硫黄結合距離、結合角はそれぞれ $0.1 \text{ \AA}$, 5° 以内で一致する。可視、ESR、メスbauerなどの分光学的性質も非常によく似ている。しかし酸化還元電位は DMSO の中で -800 mV であり、ルブレドキシンの -57 mV とは溶媒の誘電率の差を補正しても異なる。第 1 の原因は微妙な立体構造の違い、すなわち鉄と硫黄の軌道の重なりのおよそ 10% の差が酸化還元電位に大きな影響を及ぼすためであり、もう一つはルブレドキシンが持つチオラート基とペプチド鎖の間の $\text{S} \cdots \text{HN}$ 水素結合が影響を与えていると考えられる⁹⁷⁾。

よりルブレドキシンに近いモデルとしてペプチドを配位子とする錯体の合成が試みられている。ルブレドキシンのポリペプチド鎖のシステイン残基周辺は $-\text{Cys-X-Y}-\text{Cys}-$ のアミノ酸配列をしているので、同様の配位子をもつ構造のクラスターが合成されている。中村ら⁹⁸⁾によって合成された $\text{Z-Cys-Ala-Ala-Cys-OMe}$ (Z はカルボベンゾキシル基) と $\text{Fe}(\text{III})$ の錯体はルブレドキシンと良く似た CD スペクトルを示し、システイン残基周辺の二次構造がルブレドキシンと良く一致していると考えられる^{99, 100)}。

2 Fe-2 S* 型モデルとして Holm らは次の錯体を合成した。

Fig.10 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{S}_2\text{-O-xylyl})_2]^{2-}$.*R. H. Holm, *Acc. Chem. Res.*, **10**, 428 (1977) より引用

この錯体のX線解析結果を図10に示す。植物由来の2 Fe-2 S*型フェレドキシンの構造が解明されたのは、この錯体の構造が解明された後であり¹⁰¹⁾ 2 Fe-2 S*型フェレドキシンモデルとして意義深いものであった。この錯体はフェレドキシンと類似の吸収を可視部に有し、酸化型は反強磁性である。この型のクラスターも Z-Cys-Ala-Ala-Cys-OMe のようなペプチド配位子にもつものが合成されている⁹⁸⁾。

4 Fe-4 S*型の錯体は次式に示す方法ではじめて合成単離された^{102, 103)}。

SR として SCH_2Ph を用いた場合の構造を図11に示す。構造的には4 Fe-4 S*型フェレドキシンおよび HPiP に極めて類似しているが、酸化還元電位は -1.8 V でフェレドキシンの -0.5 V とかなり異なる。しかし、その

Fig.11 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_2\text{Ph})_4]^{2-}$.

*文献 2-C より引用

後合成された $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S}-(\text{RS})\text{-Cys}(\text{Ac})\text{-NHMe})_4]^{2-}$ ¹⁰⁴⁾ は非常に類似した酸化還元電位を示す。

これらの錯体は電子伝達体としての機能を有するが、酵素機能を持つものはほとんど知られていない。最近、著者らは牛血清アルブミンを配位子とする4 Fe-4 S*型クラスターがヒドロゲナーゼ活性を有することを見出した^{105, 106)}。この錯体は水素発生触媒として働くが、活性はヒドロゲナーゼの1/1000程度である。

5. おわりに

非ヘム鉄の研究はヘム鉄のそれに比してかなり遅れて近年非常に活発に行われ出した分野である。その中でルブレドキシン、フェレドキシンの構造とその活性部位である鉄・硫黄クラスターの物理化学的性質はそのモデル錯体の研究も含めかなりよく理解されるようになってきた。しかし、種々の酵素機能を持つ非ヘム鉄については、その複雑さ故に未知の部分が多く、今後の研究が待たれる。

最後に本稿を執筆するに当たり、ご指導、ご助言いただいた慶伊富長教授、小野嘉夫助教授に感謝の意を表します。(昭和56年8月17日受理)

文 献

- 1) "Iron-Sulfur Proteins" (W. Lovenberg, ed.), Vol. I, II (1973), Vol. III (1977)
- 2a) W. H. Orme-Johnson, *Ann. Rev. Biochem.*, **42**, 159 (1973)
- b) W. H. Orme-Johnson, "Inorganic Biochemistry" (G. L. Eichhorn, ed.), Vol. 2, p. 710 (1973)
- c) 杉浦幸雄, 化学の領域, **27**, 277 (1973)
- d) 杉浦幸雄, 田中久, "Bioinorganic Chemistry", 化学増刊, **61**, 121 (1974)
- e) R. Cammack, "Metalloproteins: Structure, Function and Clinical Aspects" (U. Weser, ed.), p. 162 (1979)
- f) D. C. Yoch, R. P. Carithers, *Microbiol. Rev.*, **43**, 384 (1979)
- 3) L. H. Jensen, *Ann. Rev. Biochem.*, **43**, 461 (1974)
- 4) E. T. Lode, M. J. Coon, *J. Biol. Chem.*, **246**, 791 (1971)
- 5) I. Moura, A. V. Xavier, R. Cammack, M. Bruschi, J. Le Gall, *Biochim. Biophys. Acta*, **533**, 153 (1978)
- 6) D. O. Hall, K. K. Rao, "Ferredoxin" (A. Trebst, M. Avron, ed.), Vol. 5, p. 206 (1977)
- 7) T. Tsukihara, K. Fukuyama, H. Tahara, Y. Katsube, Y. Matsuura, N. Tanaka, M. Kakudo, K. Wada, H. Matsubara, *J. Biochem.*, **84**, 1645 (1978)

- 8) L. Kersch, D. Oesterhelt, R. Cammack, D. O. Hall, *Eur. J. Biochem.*, **71**, 101 (1976)
- 9) R. W. Estabrook, K. Suzuki, J. E. Mason, J. Baron, W. E. Taylor, E. R. Simpson, J. Purvis, J. McCarthy, *ref. (1)*, Vol. I, p. 193 (1973)
- 10) R. L. Tsai, I. C. Gunsalus, K. Dus, *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **45**, 1300 (1971)
- 11) J. Cardenas, L. E. Mortenson, D. C. Yoch, *Biochim. Biophys. Acta*, **434**, 244 (1976)
- 12) D. U. DerVartanian, Y. I. Shethna, H. Beinert, *ibid.*, **194**, 548 (1969)
- 13) G. Scherings, H. Haaker, C. Veeger, *Eur. J. Biochem.*, **77**, 621 (1977)
- 14) C. W. Carter, *ref. (1)*, Vol. III, p. 157 (1977)
- 15) R. Cammack, D. P. E. Dickson, C. E. Johnson, *ref. (1)*, Vol. III, p. 283 (1977)
- 16) N. A. Stombaugh, J. E. Sundquist, R. H. Burris, W. H. Orme-Johnson, *Biochemistry*, **15**, 2633 (1976)
- 17) D. C. Yoch, D. I. Arnon, W. V. Sweeney, *J. Biol. Chem.*, **250**, 8330 (1975)
- 18) W. V. Sweeney, J. C. Rabinowitz, D. C. Yoch, *ibid.*, **250**, 7842 (1975)
- 19) D. C. Yoch, R. P. Carithers, D. I. Arnon, *ibid.*, **252**, 7453 (1977)
- 20) L. E. Mortenson, G. Nakos, *ref. (1)*, Vol. I, p. 37 (1973)
- 21) E. T. Adman, L. C. Sieker, L. H. Jensen, *J. Biol. Chem.*, **251**, 3801 (1976)
- 22) D. C. Yoch, D. I. Arnon, *ibid.*, **247**, 4514 (1972)
- 23) R. Cammack, K. K. Rao, D. O. Hall, J. J. G. Moura, A. V. Xavier, M. Bruschi, J. Le Gall, A. Deville, J.-P. Gayda, *Biochim. Biophys. Acta*, **490**, 311 (1977)
- 24) D. Backstrom, M. Lorusso, K. Anderson, A. Ehrenberg, *ibid.*, **502**, 276 (1978)
- 25) H. M. Van der Westen, S. G. Mayhew, C. Veeger, *FEBS Lett.*, **86**, 122 (1978)
- 26) P. H. Gitlitz, A. I. Krasna, *Biochemistry*, **14**, 2561 (1975)
- 27) M. W. W. Adams, D. O. Hall, *Arch. Biochem. Biophys.*, **195**, 288 (1979)
- 28) I. Itakura, E. W. Holmes, *J. Biol. Chem.*, **254**, 333 (1979)
- 29) J. Y. Wong, E. Meyer, R. L. Switzer, *ibid.*, **252**, 7424 (1977)
- 30) F.-H. Bernhardt, E. Heymann, P. S. Traylor, *Eur. J. Biochem.*, **92**, 209 (1978)
- 31) F. J. Ruzicka, H. Beinert, *J. Biol. Chem.*, **253**, 2514 (1978)
- 32) K. Schneider, R. Cammack, H. Schlegel, D. O. Hall, *Biochim. Biophys. Acta*, **578**, 445 (1979)
- 33) H. Beinert, B. A. C. Ackrell, A. D. Vinogradov, E. B. Kearney, T. P. Singer, *Arch. Biochem. Biophys.*, **182**, 95 (1977)
- 34) K. A. Davis, Y. Hatefi, I. P. Crawford, H. Baltscheffsky, *ibid.*, **180**, 459 (1977)
- 35) J. C. Salerno, J. Lim, T. E. King, H. Blum, T. Ohnishi, *J. Biol. Chem.*, **254**, 4828 (1979)
- 36) N. R. Orme-Johnson, R. E. Hansen, H. Beinert, *ibid.*, **249**, 1922 (1974)
- 37) S. P. J. Albracht, J. Subramanian, *Biochim. Biophys. Acta*, **462**, 36 (1977)
- 38) F. J. Ruzicka, H. Beinert, *J. Biol. Chem.*, **252**, 8440 (1977)
- 39) P. Forget, *Eur. J. Biochem.*, **42**, 325 (1974)
- 40) S. P. Vincent, R. C. Bray, *Biochem. J.*, **171**, 639 (1978)
- 41) J. Van't Riet, J. H. Van El, R. Wever, B. F. Van Gelder, R. J. Planta, *Biochim. Biophys. Acta*, **405**, 306 (1975)
- 42) P. A. Scherer, R. K. Thauer, *Eur. J. Biochem.*, **85**, 125, (1978)
- 43) W. G. Zumft, L. E. Mortenson, G. Palmer, *ibid.*, **46**, 525 (1974)
- 44) R. R. Eady, J. R. Postgate, *Nature*, **249**, 805 (1974)
- 45) W. H. Orme-Johnson, L. C. Davis, *ref. (1)*, Vol. III, p. 15 (1977)
- 46) D. J. Lowe, R. R. Eady, R. N. F. Thorneley, *Biochem. J.*, **173**, 277 (1978)
- 47) J. J. G. Moura, A. V. Xavier, R. Cammack, D. O. Hall, M. Bruschi, J. Le Gall, *ibid.*, **173**, 419 (1978)
- 48) E. C. Hatchikian, M. Bruschi, J. Bonicel, P. Couchoud, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **86**, 725 (1979)
- 49) W. H. Orme-Johnson, R. H. Sands, *ref. (1)*, Vol. II, p. 195 (1973)
- 50) P. G. Debrunner, E. Munck, L. Que, C. E. Schulz, *ref. (1)*, Vol. III, p. 381 (1977)
- 51) P. J. Stephens, A. J. Thomson, T. A. Keidering, J. Rawlings, K. K. Rao, D. O. Hall, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **75**, 5273 (1978)
- 52) T. E. Meyer, J. J. Sharp, R. G. Bartsch, *Biochim. Biophys. Acta*, **234**, 266 (1971)
- 53) K. D. Watenpaugh, L. C. Sieker, J. R. Herriott, L. H. Jensen, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **36**, 359 (1971)
- 54) K. D. Watenpaugh, L. C. Sieker, J. R. Herriott, L. H. Jensen, *Acta Crystallogr. B*, **29**, 943 (1973)
- 55) R. G. Shulman, P. Eisenberger, B. K. Teo, B. M. Kincaid, G. S. Brown, *J. Mol. Biol.*, **124**, 305 (1978)
- 56) K. D. Watenpaugh, L. C. Sieker, L. H. Jensen, *ibid.*, **131**, 509 (1979)

- 57) H. Bachmayer, K. T. Yasunobu, J. L. Peel, S. J. Mayhew, *J. Biol. Chem.*, **243**, 1022 (1968)
- 58) J. Peisach, W. E. Blumberg, E. T. Lode, M. J. Coon, *ibid.*, **246**, 5877 (1971)
- 59) W. Lovenberg, B. E. Sobel, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **54**, 193 (1965)
- 60) W. D. Phillips, M. Poe, J. F. Weiber, C. C. McDonald, W. Lovenberg, *Nature*, **227**, 574 (1970)
- 61) K. K. Rao, M. C. W. Evans, R. Cammack, D. O. Hall, C. L. Thompson, P. J. Jackson, C. E. Johnson, *Biochem. J.*, **129**, 1063 (1972)
- 62) I. Moura, A. V. Xavier, R. Cammack, M. Bruschi, J. Le Gall, *Biochim. Biophys. Acta*, **533**, 156 (1978)
- 63) L. E. Mortenson, R. C. Valentine, J. E. Carnahan, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **7**, 448 (1962)
- 64) W. Lovenberg, B. B. Buchanan, J. C. Rabinowitz, *J. Biol. Chem.*, **238**, 3899 (1963)
- 65) R. Malkin, J. C. Rabinowitz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **23**, 822 (1966)
- 66) J. S. Hong, J. C. Rabinowitz, *ibid.*, **29**, 246 (1967)
- 67) E. Bayer, D. Josef, P. Krauss, H. Hagenmaier, A. Roder, A. Trebst, *Biochim. Biophys. Acta*, **143**, 435 (1967)
- 68) V. Suzuki, *Biochemistry*, **6**, 1335 (1967)
- 69) J. C. M. Tribis, M. J. Namtvedt, I. C. Gunsalus, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **30**, 323 (1968)
- 70) C. E. Johnson, R. Cammack, K. K. Rao, D. O. Hall, *ibid.*, **43**, 564 (1971)
- 71) K. K. Rao, R. Cammack, D. O. Hall, C. E. Johnson, *Biochem. J.*, **122**, 257 (1971)
- 72) E. T. Adman, L. C. Sieker, L. H. Jensen, *J. Biol. Chem.*, **248**, 3987 (1973)
- 73) R. N. Mullinger, R. Cammack, K. K. Rao, D. O. Hall, D. P. E. Dickson, C. E. Johnson, J. D. Rush, A. Simopoulos, *Biochem. J.*, **151**, 75 (1975)
- 74) C. D. Stout, D. Ghosh, V. Partabhi, A. H. Robbins, *J. Biol. Chem.*, **255**, 1797 (1980)
- 75) C. W. Carter, J. Kraut, S. T. Freer, R. A. Alden, L. C. Sieker, E. Adman, L. H. Jensen, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **69**, 3526 (1972)
- 76) R. Cammack, K. K. Rao, D. O. Hall, C. E. Johnson, *Biochem. J.*, **125**, 849 (1971)
- 77) W. R. Dunham, A. J. Bearden, I. T. Salmeen, G. Palmer, R. H. Sands, W. H. Orme-Johnson, H. Beinert, *Biochim. Biophys. Acta*, **253**, 134 (1971)
- 78) B. E. Smith, G. Lang, *Biochem. J.*, **137**, 169 (1974)
- 79) C. L. Thompson, C. E. Johnson, D. P. E. Dickson, R. Cammack, D. O. Hall, U. Weser, K. K. Rao, *ibid.*, **139**, 97 (1974)
- 80) D. P. E. Dickson, C. E. Johnson, R. Cammack, M. C. W. Evans, D. O. Hall, K. K. Rao, *ibid.*, **139**, 105 (1974)
- 81) D. P. E. Dickson, R. Cammack, *ibid.*, **143**, 763 (1974)
- 82) I. Okura, K. Nakamura, T. Keii, *J. Mol. Catal.*, **4**, 453 (1978)
- 83) I. Okura, K. Nakamura, S. Nakamura, *ibid.*, **6**, 299 (1979)
- 84) I. Okura, K. Nakamura, S. Nakamura, *ibid.*, **6**, 307 (1979)
- 85) I. Okura, K. Nakamura, S. Nakamura, *ibid.*, **6**, 311 (1979)
- 86) Y. Takahashi, T. Onodera, K. Yamamoto, *J. Exp. Med.*, **114**, 555 (1961)
- 87) T. Suzuki, Y. Maeda, H. Sakai, S. Fujimoto, Y. Morita, *J. Biochem.*, **78**, 555 (1975)
- 88) T. Suzuki, S. Akiyama, S. Fujimoto, M. Ishikawa, Y. Nakao, H. Fukuda, *ibid.*, **80**, 805 (1976)
- 89) J. P. Glusker, *J. Mol. Biol.*, **38**, 149 (1968)
- 90) K. A. Davis, Y. Hafezi, I. P. Crawford, H. Baltscheffsky, *Arch. Biochem. Biophys.*, **180**, 459 (1977)
- 91) J. C. Salerno, T. Ohnishi, *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **73**, 833 (1976)
- 92) T. Ohnishi, J. C. Salerno, *J. Biol. Chem.*, **251**, 2094 (1976)
- 93) T. Ohnishi, *ibid.*, **251**, 2105 (1976)
- 94) D. J. Steenkamp, T. P. Singer, H. Beinert, *Biochem. J.*, **169**, 361 (1978)
- 95) R. W. Lane, J. A. Ibers, R. B. Frankel, G. C. Papaefthymiou, R. H. Holm, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 84 (1977)
- 96) R. W. Lane, J. A. Ibers, R. B. Frankel, R. H. Holm, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **72**, 2868 (1975)
- 97) 中村 晃, 上山憲一, 化学の領域, **35**, 404 (1981)
- 98) N. Ueyama, M. Nakata, A. Nakamura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, 1727 (1981)
- 99) J. J. Mayerle, R. B. Frankel, R. H. Holm, J. A. Ibers, W. D. Phillips, J. E. Weiher, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **70**, 2429 (1973)
- 100) J. J. Mayerle, S. E. Denmark, B. V. Depamphilis, J. A. Ibers, R. H. Holm, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 1032 (1975)
- 101) T. Tsukihara, K. Fukuyama, H. Tahara, Y. Katsube, Y. Matsuura, N. Tanaka, M. Kakudo, K. Wada, H. Matsubara, *J. Biochem.*, **84**, 1645 (1978)
- 102) T. Herskovitz, B. A. Averill, R. H. Holm, J.

- A. Ibers, W. D. Phillips, J. F. Weiher, *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **69**, 2437 (1972)
- 103) B. A. Averill, T. Herskovitz, R. H. Holm, J. A. Ibers, *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3523 (1973)
- 104) C. L. Hill, J. Renaud, R. H. Holm, L. E. Mortenson, *ibid.*, **99**, 2549 (1977)
- 105) I. Okura, S. Nakamura, K. Nakamura, *J. Mol. Catal.*, **6**, 73 (1979)
- 106) I. Okura, S. Nakamura, *ibid.*, **9**, 125 (1980)

次　号　予　定

巻　頭　言

偶感—日本の化学と工業の競争力—.....星　野　孝　平

総説および総合論文

金属錯体によるテルペン合成.....大　塚　齊之助

スベルミジンおよびスベルミンアルカロイドの合成.....松　山　春　男

プロベラン型化合物の合成.....大　戸　愛　信人
平　部　義　人

アズレン誘導体の合成.....高　瀬　嘉　平
安　並　正　文

微量生理活性物質とその利用.....中　馬　達　二

色素レーザーとその材料.....前　田　三　男

オキシセレノ化反応.....年　光　昭　夫
植　村　榮

新しい試薬

ルテニウムヒドリド錯体.....鈴　木　寛　治
諸　岡　良　彦

REVINDEX, 新しい合成, 第39巻総目次ほか

書　評

ケミカルス ガイド 1982—83 年版

化学工業時報社, 1106 ページ, (13,500 円)

化学商品とそのメーカー・商社およびメーカー・商社の所在と電話を主体にまとめている。既存化合物はもとより、数多くの新規製品を包含してあるので、化学商品の入手に当り格好のガイドである。(協会事務局)