



Title	ユーチューブ・クロムbc1複合体 : 特異なヘム結合様式を示すクロムc1の構造
Author(s)	向井, 邦晃
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/151
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	むか 向	い 井	くに 邦	あき 晃
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8 5 7 0	号	
学位授与の日付	平成元年	3月	24日	
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ユーグレナ・チトクロムbc ₁ 複合体：特異なヘム結合様式を示すチトクロムc ₁ の構造			
論文審査委員	(主査) 教 授 松原 央			
	(副査) 教 授 堀尾 武一 教 授 田川 邦夫			

論文内容の要旨

チトクロムbc₁複合体は、呼吸鎖電子伝達系において、ユビキノール(UQH₂) -チトクロムC(cyt c)酸化還元酵素活性をもつ蛋白質複合体である。酸化還元中心として2個のチトクロムb、鉄硫黄クラスター、チトクロムc₁を含む。これまでに好気性の細菌、および、菌類、高等植物、ホ乳類のミトコンドリアから精製されている。原生動物のものに関する知見はなく、ユーグレナから精製し、その性質を調べた。

葉緑体を欠く変異株、Euglena gracilis SM-ZK、からUQH₂-cyt c還元酵素活性を精製した。サブユニット構成は、これまで報告されている真核生物のものと見かけ上同様であった。後述のようにアミノ酸配列から32.5 Kのバンドがチトクロムc₁であり、37 Kサブユニットはチトクロムbと同定した。精製標品に含まれるチトクロムを分光学的に解析したところ特徴的なチトクロムc₁を見いだした。還元型チトクロムc₁の吸収極大は、561 nmにあり、他の生物種のもの(553 nm)から大きく長波長側へシフトしていた。

ユーグレナチトクロムbc₁複合体で、最も特徴的な点は、チトクロムc₁の分光学的性質である。精製標品のチトクロムc₁に対応するピリジンヘモクロムは553 nmに吸収極大を示し、一般のC型チトクロムの示す550 nmのものと異なっていた。C型チトクロムは、一般に2個のシステイン残基でヘムを結合している。ところが、ユーグレナミトコンドリアには、システイン1個でヘムを結合する特異なチトクロムc(c-558)がある。その分光学的性質は上述のチトクロムc₁と共通することから、ユーグレナでは、両者が同様の構造でヘムを結合している可能性がある。そこで、チトクロムc₁を単離し、ヘム結合部位を含むN末端46残基の配列を決めた。ヘム結合部位は、一般のC型チトクロムと異なり、ヘ

ムを結合する2個のシステインのうち、N末側のものがユーグレナチトクロムc₁ではフェニルアラニンに置換していた。ユーグレナのチトクロムc（c-558）も、この位置がアラニンに置換している。ユーグレナミトコンドリアでは、両者とも1本のチオエーテル結合でヘムを結合していることが判明した。

ヘム結合様式が特異なチトクロムc₁の構造についてさらに知見を得るために、cDNAクローニングをおこなった。単離したcDNAは蛋白化学的に決めたアミノ酸配列をコードする塩基配列を含む、243残基からなるチトクロムc₁をコードする領域を含んでいた。ヘム結合部位は、塩基配列からも上記のように同定された。決定した塩基配列、推定されるアミノ酸配列から合成、構造に関する考察をおこなった。

論文の審査結果の要旨

チトクロムbc₁複合体は呼吸鎖電子伝達系においてUQH₂-チトクロムC酸化還元酵素活性を示す。電子伝達成分としてチトクロムb、鉄・イオウ蛋白質、チトクロムc₁を含んでいる。今までに好気性細菌、菌類、高等動植物のミトコンドリアから精製され、一部のものは詳しく解析されている。しかし原生動物のものとそのサブユニット構成が類似していることを確認した。そしてチトクロムC₁（32.5 kDa）、チトクロムb（37 kDa）、鉄・イオウ蛋白質がそれぞれ存在するが、その分光学的性質が異常で、それがチトクロムc₁に由来することを発見した。 α 吸収帯が一般のc₁では553-4 nmに存在するのにこのc₁は561 nmに存在する。このもののピリジンヘモクロムは553 nmに吸収極大を示し、一般のCヘム成分の示す550 nmのものとは異なっていた。C型チトクロムは一般に2個のシステイン残基とチオエーテル結合を通してヘムを共有結合しているが、ユーグレナのチトクロムC（c-558）はシステイン1個でヘムを結合する珍しいものである。この分光学的性質が上述のチトクロムC₁のそれと共通することから、ユーグレナのC₁も同じ構造でヘムを結合している可能性がある。そこでこのC₁のヘム結合部を含むペプチドのアミノ酸配列を決定した。そしてそこが、Phe-Ala-Phe-（Cys）-His-であり、通例A1aの前にもう1つCysがあるべきなのがPheに置換され、システイン1個によるヘム結合の仮説が証明された。ユーグレナのチトクロムCではこゝがAla-Ala-Gln-Cys-His-となっている。さらにこの構造を確実なものにするため、cDNAのクローニングを行い、872塩基対から成る塩基配列を決定した。このものは蛋白質のペプチド断片各種のアミノ酸配列をコードする塩基配列を含み、243残基から成る成熟チトクロムC₁をコードする。そしてヘム結合部位は正しく-Phe-Ala-Pro-Cys-His-であることが確認され、他のチトクロムC₁の構造との比較や膜指向性前駆ペプチドの構造の考察も十分に成しうる成果をえた。

以上の結果は理学博士の学位論文として十分価値のあるものと認めるものである。