



Title	High Resolution (2.30Å) Analysis of the Crystal Structure of Bonito Ferrocyanochrome c
Author(s)	Yamane, Takashi
Citation	大阪大学, 1975, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1829
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【26】

氏名・(本籍)	山	根	隆
学位の種類	理	学	博士
学位記番号	第	3489	号
学位授与の要件	昭和50年12月15日		
学位授与の日付	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	還元型テトクロームCの高分解能(2・3Å)構造解析		
論文審査委員	(主査) 教授 角戸 正夫 (副査) 教授 桐山 良一 教授 堀尾 武一 教授 千原 秀昭 教授 京極 好正		

論文内容の要旨

カツオの還元型チトクロームCの2・3Å分解能における単結晶×線構造解析を、新たな置換体の調整により行うことができた。位相決定は重原子同型置換法で行った。異常分散を利用しなかったので、最底2種の良質な同型置換体が必要であるが、4Å分解能における解析の結果、これに使用された2種の置換体の内、1つは同型性などの問題から、高分解能の解析には利用できないことがわかった。

そこで、新たな置換体の検索を行ない、 $(CH_3)_2SnCl_2$ 置換体、 K_3IrCl_6 置換体を得た。

所で、還元型の結晶は、同型性を保持したまま分子が酸化されて、酸化型の結晶になってしまふところがわかった。このため、置換体の調製、および反射強度測定時は、結晶の酸化を押えることに重点をおいた。

蛋白質の位相は統計的な方法で決められている。しかし、従来の方法は、すべての誤差を F_{pH} に求めるか、 F_{pH} の標準偏差はすべて等しいとして取扱っている。これらの仮定は極端すぎると考えられるので、 F_p の誤差も考慮し、かつ標準的差も等しくないとして、位相の確率分布を評価した。2・3Å分解能における figure of merit (位相の誤差の cosine の平均値) の平均は0.65である。

リチャード箱を使って、分子模型を作った。分子はほぼ卵型で、 $35 \times 30 \times 23\text{Å}$ の大きさである。ヘムは分子内部にあるが、1部を表面に露出している。分子の下部に、ヘムのプロピオン酸残基を中心とする水素結合網が見出された。分子は、上部はヘリックスを核に、剛構造をしており、一方、下部は柔軟な骨格をしている。この事は、電子密度図の特徴からも裏付けられた。この分子はリジンを16残基含むが、これらは上方から左後方に集中的に分布しており、分子表面における電荷の片寄りが見出された。

この分子模型を馬の酸化型、マグロの還元型チトクロームCのそれと比較したところ、還元による分子収縮はわずかであり、かつ酸化型と還元型で、大きな差はみられなかった。チトクロームC₂も含めて、結晶状態におけるチトクロームCの主鎖の折れまがりの様式は本質的に同じであることが明らかになった。これらの分子構造を前提として、溶液中における溶媒の影響や、分子の動的なゆらぎを無視しているなどの問題があるが、チトクロームCの酸化、還元機構について推論した。

論文の審査結果の要旨

カツオ還元型（フェロ）チトクロームCのX線解析については先に4 Å分解能解析に成功したものであるが、分子中の各アミノ酸残基の位置まで求めるために精密（2, 3 Å）解析を行なう必要があった。

この解析は4 Å解析のデータを用いないで、全く結晶からやりなおすもので、山根君はこの結晶化から重原子附加、回折強度集録、解析計算、構造模型の作成によるまで、その全研究過程に従事し、多くの新しい工夫を加え最終結果に導いたものである。

すなわち、精密解析のための良質の回折強度値を得るために新しい重原子として、 $(CH_3)_2SnCl_2$ と K_3IrCl_6 を附加することに成功し解析精度向上に貢献した。この還元型の酸化を防ぐための重原子浸漬実験の新しい工夫も効果を上げるに役立っている。

又、位相決定の段階において、位相角確率分布関数P(α)の評価方法について、実測強度に重荷をおく新しい試みを導入して精度を向上することにも成功した。

以上の最終結果として三次元電子密度図から分子骨格モデルを作成したが、これについても独創的工夫を加えたRichard Boxを試作した。

なお、分子構造を元として、この蛋白質の電子伝達機能についても考察しているが、特にこの物質の構造上の特長である水素結合ネットワークによるプロトンリーシステムによる解釈も独自のものである。以上同君の2・3 Å精密解析の論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。