OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	THE PRIMARY STRUCTURE OF BOVINE HEART CYTOCHROME C1
Author(s)	Wakabayashi, Sadao
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24593
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【15】

氏名・(本籍)	若林貞夫
学位の種類	理学博士
学位記番号	第5197号
学位授与の日付	昭和56年3月25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	ウシ心筋チトクロムc_1の一次構造
論文審査委員	(主査) 教授 松原 央 (副査) 教授 池中 徳治 教授 佐藤 了

論文内容の要旨

ミトコンドリアの電子伝達系の一成分であるチトクロムc_1は1940年に発見されたが，抽出，精製が困難であるため，その研究は限られている。特に構造に関する研究はほとんどなく，一次構造はもとより立体構造も判明しているチトクロムcとの電子伝達の機構が明らかにされていない一要因となっている。そこで本研究では，ウシ心筋のチトクロムc_1の一次構造を決定することにした。

チトクロムc_1をトリプシン，Staphylococcusのプロテアーゼ，キモトリプシンで消化し，それぞれのペプチド断片をゲル沪過，イオン交換クロマトグラフィー，高圧沪紙電気泳動，沪紙クロマトグラフィーで精製し，それらのアミノ酸配列順序を手動エドマン法及び固相法のシークエンサーを用いて決定した。また，ブロムシアン分解によって生じたペプチドの分析及びヒドロキシルアミン分解を行い，アミノ酸配列をより確実なものとした。以上の分析により，総残基数241コのアミノ酸から成るチトクロムc_1の一次構造が明らかとなった。ヘムを含む分子量は27,874で今までに報告されている値29,000～31,000より少し小さかった。決定した一次構造から算出されるチトクロムc_1のアミノ酸組成は次の通りである。Asp13, Asn6, Thr7, Ser16, Glu16, Gln5, Pro22, Gly17, Ala18, Cys5, Val15, Met10, Ile4, Leu25, Tyr15, Phe8, Lys12, His9, Arg15, Trp3。

決定した一次構造上にはチトクロムc_1の機能発現と関連して次に示すようないくつかの特徴が認められた。

(1) ヘムはN末端から37番目と40番目のシステイン残基を介してポリペプチド鎖に結合している。ヘム鉄への配位子としては，チトクロムcの構造との類似性から41番目のヒスチジンと208番目のメチオニンが考えられた。

(2) チトクロム c_1 には22残基のプロリンが含まれ，5つのPro-Pro結合と一カ所のPro-X-Pro-X-Pro-X-Proという配列が存在するが，その重要性については明らかでない。

(3) c末端領域に疎水性，塩基性の残基の集合が見られ，チトクロム c_1 がミトコンドリア内膜に埋めこまれるのに重要な働きをすると推察された。

(4) 酸性残基ばかりが集っている部位が2カ所存在し，チトクロム c との相互作用に関与していると考えられた。

(5) ChouとFasmanの方法により，20%が α ヘリックス，34%が β シートの構造をとっていると推定された。

論文の審査結果の要旨

動物細胞のミトコンドリア呼吸鎖は電子伝達に伴うATP生産の場として重要である。この機能を理解する上で，ミトコンドリア膜系の酵素，蛋白質の構造を知ることは最も基本的な命題であるにも伺らず，現在までに可溶性色素蛋白質チトクロム c の構造と機能の関係がくわしく研究されたにすぎない。若林君はその c に直接電子をわたすと考えられているチトクロム c_1 の構造決定を手がけた。このものは膜に結合した親脂性の蛋白質で界面活性剤の使用により溶出することができるが，その後の扱いが困難を極め，多くの研究者が断念したものである。これを解決するため，c_1 の各種誘導体を合成し，その断片化と配列順序の決定という手続きを経て合計241ケのアミノ酸から成る全一次構造を完成した。とくにヘム c を含む部分は困難を極めたが，その難関を突破することに成功した。この結果にもとずいて以下のような新事実を発見した。(1)ヘム c はチトクロム c と同様分子全体のアミノ末端側に位置し，生合成（ヘム結合機作）に共通の機作があるのではないかという示唆を与えた。(2)Cys-X-X-Cys-His-というチトクロム c と共通構造を示すことから，Hisのイミダゾール Nがヘム Feへの配位子の一つであろうと示唆した。(3)もう一つの Feへの配位子は208-Metの Sではないかという示唆を与えた。これはこの近傍の構造がチトクロム c の Met（配位子）近傍の構造と類似しているのに基く。(4)Proの分子内分布がユニークであり，分子の立体構造形成上の役割を示唆した。(5)疎水性であり且つ塩基性であるという部位を分子のカルボキシル側に発見し，膜蛋白質の特性をここに求めた。(6)酸性部位の極在性を分子のアミノ末端側に見出し，チトクロム c との相互作用に必要な部位と想像した。なおこの部位は膜から外に出ていると考えられる。その他分子の立体構造に言及し，今後の研究の重要な基盤を提供しえた。

以上の結果，この論文は理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認めるものである。