

Title	Crystal Sturcture Analysis of Cytochrome c553 from Desulfovibrio vulgaris Miyazaki F-An Application of the Multi-wavele-ngth Anomalous Dispersion Method-
Author(s)	中川, 敦史
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/2711
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

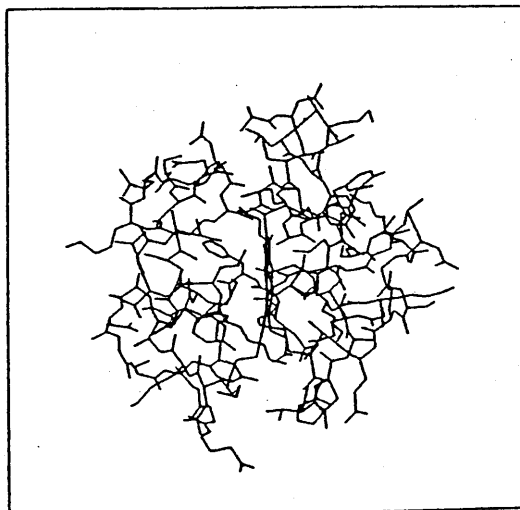
氏名・(本籍)	中 川 敦 史
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 8916 号
学位授与の日付	平成元年12月18日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Crystal Structure Analysis of Cytochrome c_{553} from <i>Desulfovibrio vulgaris</i> Miyazaki F—An Application of the Multi-wavelength Anomalous Dispersion Method— (多波長異常分散法による硫酸還元菌チトクロム c_{553} の結晶構造解析)
論文審査委員	(主査) 教授 千原 秀昭 (副査) 教授 勝部 幸輝 教授 京極 好正 教授 久司 佳彦

論 文 内 容 の 要 旨

硫酸還元菌 *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki 株のチトクロム C_{553} は、その代謝系内において電子伝達体として機能しているヘムタンパク質である。本研究ではこのチトクロム C_{553} の X線結晶構造解析による立体構造の解明を、ヘム族の異常分散効果を用いた多波長異常分散法 (Multi-wavelength Anomalous Dispersion Method) を用いて行った。

鉄の吸収端付近を含む4波長の単色化した放射光 (SR) を用い、巨大分子用ワイセンベルグカメラおよびイメージングプレート (IP) を組み合わせたシステムにより回折強度データの収集を行った。データ収集の際には多くの同価反射を集め平均化を行い、さらに、Local Scaling 等により系統誤差を減らし、位相決定に十分な精度のデータを得た。ヘム鉄の原子パラメータは、異常分散差パターン図上でその位置を決めた後、Centric refinement および Hendrickson らの方法により精密化した。2.2Å分解能までの4,995反射についての平均の Figure of Merit は0.597であった。この位相を用いて計算した電子密度図に基づいて作成した原子モデルを、プログラム PROLSQ により精密化した。水分子67個を同定し、さらに個々

Cytochrome c_{553}



の原子に独立な温度因子を適用した結果、6.0~1.6Å分解能での10,903反射（83%）についての結晶学的なR因子が22.6%の構造が得られた。

全体としては α -ヘリックスの多い構造で、主鎖の折れたたみやヘムへの結合の様子などは、いわゆるチトクロムC構造（Cytochrome c folding）をとっているが、特に、分子の下側での構造が他のC型チトクロムと大きく異なっている。この部分にはヘムのプロピオン酸部分が存在しており、これらの2つのプロピオン酸部分が、他のチトクロムCに比べて比較的分子表面に近いところにあり、また、これらの水素結合の様子や周辺がBasicな環境下にあるといったことが、チトクロムC₅₅₃の酸化還元電位の低い理由に関係していると考えられる。全体的な主鎖の折れたたみは、他のs-typeのチトクロムCと比較してもあまり類似していない。しかし、その中でも立体構造でみるかぎり、Azotobacter vinelandiiのチトクロムC₅と比較的類似の構造をとっており、進化的に比較的近い種ではないかと考えられる。

論文の審査結果の要旨

中川敦史君の論文はX線回析によるタンパク質結晶の精密な構造解析に関するものである。硫酸還元菌の代謝系内において電子伝達体として機能しているヘムタンパク質チトクロムC₅₅₃が異常に低い酸化還元電位をもつことから、このタンパク質の立体構造の決定を行った。適当な重原子置換体が得られないため、天然試料について直接の解析を行う必要があり、そのために生じる種々の困難に対処するため、いろいろな新しい手法を組み合わせ、データ処理に際しても新しい方法を採用した。すなわち強力な波長可変の光源としてシンクロトロン放射光を用い、検出にはイメージングプレートを採用して強度データの規範化に特殊な工夫をした結果、強度データの系統誤差を大幅に減少させることに成功し、またこれまで成功例がない放射光利用の多波長異常分散の方法によって、回折波の位相決定を行った結果、高い精度の電子密度分布図を得ることができ、これにより、信頼度因子R=0.226の高精度立体構造を決定することができた。このチトクロムCの構造特にヘム基およびその周辺の構造を他のC型チトクロムの構造と比較するとヘム基の付近の構造が大きく異なっていることが明らかとなり、構造と活性の相関の解明にむけて、重要な一歩をふみ出すことができた。

以上のように中川君の論文は新奇な手法をもち込んだ多波長X線分散法によって、重要なタンパク質の立体構造を解明したもので、理学博士の学位論文として十分な価値があるものと認める。