

Title	野生型および呼吸欠損変異株コウボのチトクロームcの一次構造の比較
Author(s)	矢追, 義人
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29093
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 3 】

氏名・(本籍)	矢 追 義 人 や おい よし ひと
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1013 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 9 月 12 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	野生型および呼吸欠損変異株コウボのチトクローム C の 一次構造の比較
論文審査委員	(主査) 教授 成田 耕造 (副査) 教授 次田 皓 教授 奥貫 一男

論 文 内 容 の 要 旨

パンコウボ (*Saccharomyces oviformis* M-2) チトクローム c の全アミノ酸配列決定の試みは著者の研究室において進展し、すでにそのアミノ酸組成および N-, C-両末端残基が決定されていた。さらにこのチトクローム c のトリプシン分解によって得られるペプチドについての研究の結果、大部分のトリプシンペプチドの構造があきらかにされた。

そこで著者は、上述の研究によってあきらかにされた13個のトリプシンペプチド断片の相互配列を知るため、トリプシンとはことなつた基質特異性をもつキモトリプシンによる分解を試みた。チトクローム c のキモトリプシン分解物を、Dowex 50, Dowex 1, DEAE セルロース, CM セファデックスなどによるイオン交換クロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィー、ペーパーエレクトロホレシスなどの方法を組み合わせて分画、精製し、合計32個(うち収率10%以上のもの18)のペプチドを単離した。

これらについてアミノ酸組成と N 末端残基を決定し、主として、トリプシンペプチドについて構造が完全に決定されえなかつた部分、およびトリプシンペプチド断片の相互配列を知るために重要と思われる部分につきアミノ酸配列の決定を行なつた。その他のペプチドは、アミノ酸組成と N 末端残基を知るのみで十分に構造を推定することができた。

以上の研究の結果、13個のトリプシンペプチド断片を6個の断片にまとめあげることができた。そのうち2個はそれぞれチトクローム c の N および C 末端に位置することがすでにわかっているが、残る4個の相互配列は本研究では決定できず、ひきつづき当研究室で行なわれた研究によりあきらかにされ、パンコウボチトクローム c の全アミノ酸配列が提出された。

ついで著者は、上述のコウボ *S. oviformis* M-2 よりアクリフラビン処理によって呼吸欠損菌を分離し、両者のチトクローム c の一次構造を比較した。この呼吸欠損菌は細胞質性(非核性)遺伝の現

象をしめし、チトクローム a, b を含まず c のみを含有することが知られている。従来の遺伝学的知見よりすれば、欠損菌のチトクローム c は一次構造に変化を受けていないと考えられるが、最近、野生型コウボはこれまで知られているチトクローム c のほかに少量のイソチトクローム c を含むことが報告されているので、欠損菌においてはこれら 2 種類のイソチトクローム c の比率に変動をきたしている可能性もあり、これらの点を合わせて検討した。

また、コウボの多数の strain のうち、遺伝学的および生化学的に最もよく研究されているのは、*S. cerevisiae* であり、チトクローム c の一次構造を遺伝的または生理的見地より研究するためには *S. cerevisiae* のチトクローム c の構造を知ることが望ましい。その観点より、*S. cerevisiae*, ならびにそのアクリフラビン処理によってえた呼吸欠損菌よりチトクローム c をとり出して一次構造を比較した。

その結果、これら 4 種類のコウボ (*S. oviformis* M-2, *S. cerevisiae* およびそれらの呼吸欠損菌) では Amberlite CG-50 のイオン交換クロマトグラフィーによっていずれも一種類 (iso-1 型) のチトクローム c のみが見とめられ、それらはアミノ酸組成とトリプシン分解物のペプチドマップから同じ一次構造をもつことがわかった、ゆえにこの細胞質性欠損菌は、すくなくとも “iso-1” 型チトクローム c のアミノ酸配列と、イソチトクローム c の比率とを決定する遺伝因子に変動を受けていないと結論した。

論文の審査結果の要旨

矢追君は、成田、千谷らと共同してパン酵母 (*Sacharomyces oviformis* M₂) チトクローム c の一次構造の決定を試み、共同研究者らとともに両末端基、トリプシン分解物から得られた 23 種のペプチドの構造を既に決定した。これらのペプチドの相互配列を決定するために、同君はチトクローム c のキモトリプシン消化で得られるペプチドの分離および構造決定を分担し、32 種のペプチドを分離、これらの完全構造あるいは部分構造を決定し、108 個のアミノ酸を含有するチトクローム c を 8 断片にまとめることに成功した。本研究のみで一次構造を完全に決定することはできなかったが、並行して行なわれた共同研究者の結果をあわせると、完全に一次構造が決定されたことになる。

さらに矢追君は、生化学的および遺伝学的研究がよくなされている *S. cerevisiae* のチトクローム c の一次構造を決定することは重要であると考え、*S. oviformis* のチトクローム c の一次構造と比較して、両者は同一であることを証明した。

一方酵母を acriflavin 処理すると呼吸欠損株に変異し、これは染色体に依存しない遺伝形式をとるので注目されている。この呼吸欠損株は正常に近いチトクローム c を含有するが、チトクローム系の他の員子は存在しないか存在しても極く僅かであることが知られている。

そこで *S. oviformis* および *S. cerevisiae* を acriflavin 処理して得られる変異株について、チトクローム系の酵素化学的、また遺伝学的解析を行ない、得られたものは呼吸欠損株であることを確認し、それぞれからチトクローム c を分離、カラムクロマトグラフィーでの挙動、アミノ酸分析、トリプ

シンペプチドマップの比較から，呼吸欠損株のチトクローム c は野性型のと全く同一であることを明らかにした。これらの結果から細胞質変異による呼吸欠損株では，チトクローム c の一次構造を決定する遺伝子には少なくとも変異のないことを結論した。

以上の矢追君の論文は，理学博士の学位論文として十分価値あるものと認めた。