

| | |
|--------------|--|
| Title | 緑膿菌チトクロームオキシダーゼに関する研究 |
| Author(s) | 雉本, 滋子 |
| Citation | 大阪大学, 1968, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/29711 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

| | |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 雉 本 滋 子 きじ もと しげ こ |
| 学位の種類 | 理 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 1531 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和43年9月17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 | 緑膿菌チトクロームオキシダーゼに関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 奥貫 一男 (副査) 教授 佐藤 了 教授 萩原 文二 |

論 文 内 容 の 要 旨

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) から得られる結晶 P.チトクロームオキシダーゼは亜硝酸塩還元酵素活性とチトクローム・オキシダーゼ活性の2つを持っている。又、P.チトクローム・オキシダーゼは1分子にヘムc とヘムd をそれぞれ1つづつ持っている。Iの論文では酵素が電子受容体である酸素および亜硝酸塩と働く場合の反応機作を知る目的で

- ① O_2 , NO_2^- の結合する部位が同一か否か
- ② O_2 , NO_2^- の結合するヘムはどれか、電子はどのように流れているのか、を明らかにするよう試みた。更に
- ③ O_2 , NO_2^- との反応に対する熱力学的解析を行った。

それらの結果、酵素が O_2 および NO_2^- と結合する部位は同一であること、酵素の O_2 と NO_2^- とに対する解離恒数は NO_2^- に対する方が小さいこと、即ち NO_2^- に対する親和性が(約75倍)強いことが明らかになった。また、 O_2 や NO_2^- と結合するヘムはヘムdらしいこと、電子はヘムdから O_2 や NO_2^- に流れ出ているらしいことが明らかになった。更に熱力学的解析の結果チトクロームオキシダーゼ活性は酵素の保存時間の影響をうけやすく、古くなるとエントロピーが増大するのに対し亜硝酸塩還元酵素活性はさほどの影響をうけない。もし酵素が保存中に何らかの構造的変化をうけるとすると、チトクロームオキシダーゼ活性の方がそうした構造を必要としている事を示している。P.チトクロームオキシダーゼは1分子に2つのヘムを持っているが、mammalian の場合別の蛋白であるチトクロームa とc が complex を作ることでチトクローム・オキシダーゼ活性を示すことを考えると P.チトクロームオキシダーゼの場合もヘムc およびヘムd はそれぞれ別の蛋白に結合していてその2つが強固な結合をしている可能性も考えられる。IIの論文では酵素に SDS を作用させてその分離を試みた。その結果2つの成分、即ちヘムc を持った蛋白部分とヘムd を持った蛋白部分に

分離できることが明らかになり、P.チトクロームオキシダーゼはヘムc およびヘムd をそれぞれ別の蛋白部分にもった2つの結合体であることがわかった。チトクロームオキシダーゼ活性はヘムd 部分にヘムc 部分を添加すると増加するのに対し、亜硝酸塩還元酵素活性は殆ど増加がみられない。チトクロームオキシダーゼ活性ではヘムc 部分も活性にかなり関与しているのに対し、亜硝酸塩還元酵素活性に対してはさほどの関与をしていないのではないかと推定される。この結果は論文Iの酵素の保存時間の活性に対する影響を説明することもできる。

論文の審査結果の要旨

緑膿菌 (Pと略) から結晶標品として得られるP.チトクローム (Cyt と略) オキシダーゼは、Cyt オキシダーゼ (=O₂ 還元酵素) 活性と亜硝酸塩還元酵素活性の2つをもっている。また P.Cyt オキシダーゼは1分子 (分子量約9万) 当りヘムd (旧称ヘムa₂) とc型ヘムをそれぞれ1つずつもっているの、1つの蛋白質分子にヘムが2つ結合したものか、あるいは2種類のヘム蛋白質1分子づつが緊密に結合したものかどうか未解決の問題であった。

雉本君の論文Iでは、P.Cyt オキシダーゼと O₂ および NO₂⁻ との反応機作を知るために酵素化学の実験をかさね、O₂ と NO₂⁻ の結合する部位が同一であることや、前者よりも後者が数十倍強く結合することを明らかにし、さらに、これら電子受容体は2つながらヘムd を介して電子を受けることを推定した。

論文IIでは、蛋白質の重合体を解離させる作用をもつドデシル硫酸ソーダ (=SDS) を P.Cyt オキシダーゼ標品に作用させて、2つのヘム蛋白質に解離させた実験結果を記している。ヘムd をもつ部分はc型ヘムをもつ部分より重くショ糖密度勾配分別遠心法で下方に位し淡緑色帯をあらわすが、c型ヘムをもつ部分は上方に位し、紅色帯をあらわす。後者は分子量約4万と推定されるものであるから、すでに結晶化された P.Cyt c-551 (分子量8.100) とは明らかに別なものである。したがって、P.Cyt オキシダーゼは高等生物の Cyt. a と c 両ヘム蛋白質の共力によって O₂ 還元酵素活性を発現することと類似的であることを証拠立てた成績であるから比較生化学的にも興味あるものである。

要するに雉本君の論文は、参考論文の成績とあわせ考え、酵素化学の進歩に寄与するところが大であると思われるから、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。