



Title	枯草菌のチトクロム
Author(s)	三木, 敬三郎
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29936
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	三木 敬三郎
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1913 号
学位授与の日付	昭和 45 年 3 月 20 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	枯草菌のチトクロム
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 助教授 山中 健生

論文内容の要旨

(1) チトクロム *c*-550 および *c*-554 の精製と分光学的性状。Keilin によるチトクロム研究の当初より、枯草菌のチトクロムが動物組織にみられる成分ときわめて類似したものであることが知られてきた。しかし、これらの成分は従来の方法では抽出することができず、それ故精製されたチトクロムの性状はほとんど知られていない。本研究によって、先に報告した電子伝達顆粒を調製する分画遠心法に KCl の添加を行ない、2 種の *c* 型チトクロムを可溶化し、DEAE-セルロースおよびアンバーライト CG-50 のカラムを用いて高度に精製し得た。

チトクロム *c*-550 は酸化型で 528, 407, 279mμ に、還元型で 550, 520, 414, 316, 279mμ にそれぞれ吸収極大を示す。他の分光学的性状も動物組織のチトクロム *c* のそれに近いものである。

チトクロム *c*-554 は酸化型で 523, 409, 280mμ に、還元型で 554, 521, 417, 316, 280mμ にそれぞれ吸収極大を示すが、還元型 554mμ の α 極大は 550mμ に大きな肩をもつ。この極大は低温スペクトルにより 546mμ および 552mμ の 2 つの極大に分割され、同時に複雑な 5 つの β 極大を現わす。また、この α 極大は CD スペクトルによりプラスとマイナスの異方性を示し、Soret 帯もヘム鉄の酸化還元とともに吸収にきわめて大きな変化を示す。酸化型チトクロム *c*-554 はシアン、アザイドと化合物を形成するが、イミダゾールとは反応しない。硫酸銀により抽出されたポルフィリンはヘマトポルフィリンであり、配合族はヘム *c* と差がみとめられないから、このヘム蛋白質はきわめて、不齊なかつ強力な配位をしたヘムをもつものといえる。

(2) チトクロム *c*-550 および *c*-554 の物理化学的および酵素化学的性状。高度に精製されたチトクロム *c*-550 の等電点は pH 8.65、標準酸化還元電位 E'_0 は +0.21 ボルト (pH 7.0) である。分子量は 12,500 (ゲルろ過法) であり、分光学的にも動物組織にみられるチトクロム *c* に似た

性状のものと思われたが、動物や酵母のチトクロム α ではほとんど酸化されず、緑膿菌のチトクロムオキシダーゼによりすみやかに酸化される。この c 型チトクロムは酵素反応からは高等動物のチトクロム c とかなり異なった高次構造をもつものであろう。

チトクロム $c-554$ は α 極大が分光学的に二重性を示すにもかかわらず、ヘモクロモーゲン含量からは 1 分子中 1 ヘムしか含まないことがわかった。NADH および硫酸第一鉄による α 吸収帶の還元様式は $554m\mu$ の極大と $550m\mu$ の肩が同じ吸光比によるものであり、1 つのヘムの配位子の不齊によるものとみられる。分子量はゲルろ過法およびアミノ酸分析から 14,000、超遠心分析による沈降定数 $s_{20,w}$ は 1.2 である。等電点は pH 4.44, E_0' は -0.08 ボルト (pH 7.0)。アミノ酸組成はアスパラギン酸、グルタミン酸、またスレオニンを多く含むものであり、トリプトファン 1, ヒスチジン 2, リジン 12 を含む。この c 型チトクロムも動物のチトクロム α ではほとんど酸化されず、細菌のチトクロムオキシダーゼで酸化される。

これら 2 つの c 型チトクロムはこの細菌の電子伝達顆粒中に局在することが、アスコルビン酸還元による低温スペクトルから明らかとなった。また顆粒中の NADH およびコハク酸にみちびかれる電子伝達系における役割が知られた。

論文の審査結果の要旨

枯草菌はグラム陽性菌で酵母菌や高等生物にみられる $a b c$ 型チトクロム (Cyt) 系をもつと信じられていたが、2, 3 の Cyt 成分を抽出精製してみた結果から、かなり異なる Cyt 成分から成ることが明らかになった。

集めた生菌をフレンチプレス処理して得られる活性の強い電子伝達顆粒は生菌細胞でみられる Cyt 系を含み、還元助酵素およびコハク酸オキシダーゼ系をもつもので、いろいろな呼吸阻害剤に対する態度や、そのさいの Cyt 系、各成分の吸収帶消長を比較検討して、Cyt $\alpha-601$, Cyt $b-560$, Cyt $c-550$ および Cyt $c-554$ が関与していることを明らかにした。また、Cyt $c-550$ と Cyt $c-554$ を抽出精製して、それらの物理化学的、蛋白質化学的ならびに酵素化学的諸性質を詳しくしらべ興味ある事実を明らかにした。たとえば、野性株 K (268) の Cyt $c-550$ は高等生物のそれに似ている [分子量 12,500, 規準電位 +0.2 V (pH 7), pI=8.6] が、ウシや酵母の Cyt α とはほとんど反応しないで緑膿菌の Cyt オキシダーゼによって速かに酸化される。他方、枯草菌変異株 JB-69 から得られた Cyt $c-550$ は前者と酷似した性質をもつが、pI=4.6 で酸性タンパク質でいわゆる細菌型 Cyt c に属す。

Cyt $c-554$ は $550m\mu$ に明瞭な肩をもち、 β 吸収帶の複雑さと相俟ってヘム近傍が不齊性を示すものと考えられるが、円偏光二色性スペクトルからも、それが裏書きされた。分子量 14,000、規準電位 -0.08 V (pH 7), pI=4.4 で 1 分子にヘム 1 つをもつものである。電子伝達系では高等生物の Cyt c_1 の役割を果しているものと思われる。

要するに三木君の論文は参考論文の成績とあわせ考え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。