



Title	チトクロームb5の研究
Author(s)	Mohammad, Abdur Rashid
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30078
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)	Mohammad Abdur Rashid
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1928 号
学位授与の日付	昭 和 45 年 3 月 30 日
学位授与の要件	理学研究科生化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	チトクローム b_5 の研究
論文審査委員	(主査) 教 授 萩原 文二 (副査) 教 授 奥貫 一男 教 授 次田 皓 教 授 佐藤 了

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトおよびニワトリ肝臓の microsomal fraction を蛋白分解酵素 (trypsin, nagarse) 処理することで cytochrome b_5 を抽出, 可溶化した。いずれも含有量が小さく, 多量の材料から抽出・精製する必要があるため, 超遠心による microsomes の分別および酵素処理後の microsomes の除去が困難であるため, polyethyleneglycol 沈澱法を用い低速遠心で分別除去した。抽出した cytochrome b_5 溶液に DEAE-Sephadex (低濃度のリン酸 buffer, pH 7.4 で平衡化) を加え, カラムに移して吸着した cytochrome b_5 を洗滌, 溶離した。溶出液は硫酸分画, DEAE-Cellulose column による吸着, 洗滌, 溶離操作および DEAE-Sephadex によるイオン交換, Sephadex による gel filtration の chromatography で精製し, 高純度の cytochrome b_5 を得た。しかしニワトリでは polyacrylamide のディスク電気泳動で単一と認められたが, ヒトでは少量の異なる成分がみられた。DEAE-Sephadex による chromatography (130mM リン酸-buffer, pH 7.4 で展開) でニワトリの cytochrome b_5 はウサギ, ウシと同様に 2 bands に分かれたが, ヒトのそれは 1 band であった。これはウサギ, ウシのアミノ酸配列順序 (一次構造) で明らかにされたように, C-terminal の部分が -Arg-Ser-Lys であるので, 可溶化時の酵素 (trypsin) によって Ser-Lys が分離したものとそうでないものが存在するため, ウサギなどでは 2 bands になるが, ヒトでは一次構造の解析の結果この serine が proline に置換していることがわかったが, そのために trypsin の作用を受けなくなったためと考えられる。

こうして得られた cytochrome b_5 を trypsin 消化によって 9 つの peptides に分けた。このうち 1 つは可溶性の peptide であり, pH 3 で溶解することがわかった。Ozols & Strittmatter はウシの cytochrome b_5 でこの peptide を見落としそのために著しく異なる分子構造を報告している。しかしすでにわれわれはウサギでこの peptide の存在を認め, ウシでも同じ peptide が

あることを確かめている。(この peptide のアミノ酸配列は Ser-Thr-Trp-Leu-Ile-Leu-His-His (ウシでは Tyr-Lys であった。)

それぞれの peptide を Edman degradation 法, carboxypeptidase 法などで分析し, ウサギ, ウシの cytochrome b_5 の一次構造と比較しながら全分子構造を決定した。この結果ヒトとニワトリでは22~73番, 75~85番の構造は全く同一であり, 42~86番の構造は4種の動物に共通であった。これら共通部分は cytochrome b_5 の機能発現の上に必須なあるいは重要な役割を果たす部分であると考えられる。その他の部分では4種の動物の間でいくつかのアミノ酸の置換があるが, いずれも核酸の1個の base 変化で説明できる。ただし, ウシの asparagine (AA_C^U) とニワトリの glutamine (CA_G^A) との関係は double base 変化でなければ説明できない。

論文の審査結果の要旨

ペロトヘムを含むヘモグロビン, ミオグロビンなどは構造と機能の関係がよく研究されているが, 同じヘムを持ちながらこれらとは異った機能をもつb型チトクロームの構造的な研究はほとんどない。わずかに動物の肝臓のチトクローム b_5 が, 米国の Strittmatter らにより精製され, 我々の研究室においても結晶化され, 両研究室でそれぞれウシおよびウサギのものについてアミノ酸配列(一次構造)が報告されている。しかし, 両者の結果には動物種の違いからは説明しがたい大きな差がある。

上記のくいちがいを目明らかにするため, 同時に遺伝生化学的な比較を行なうためにヒトおよびニワトリの肝臓よりの抽出並びに精製を行い一次構造が決定された。精製法は基本的には, 本研究室のウサギ肝臓よりの方法が用いられたが, ポリエチレングリコール処理によるミクロソームの沈澱化によって超遠心分離でなく通常の遠心機で処理できるようにしたこと, その他2, 3の点についてかなり大巾な改良が行なわれた。一次構造については主として約10個の Trypsin peptide について厳密な検討が行われて, 数個のアミノ酸残基についての配列順序以外にはほぼ全構造が決定された。

以上の研究の結果からウサギ, ニワトリの相互の間には数個のアミノ酸の入れ代りがあるが, いずれも核酸塩基1個の変化で説明できるものであった。また, 36~65番目および70~79番の計40個のアミノ酸は各動物で, まったく一致した構造をもつこともわかった。さらに, 問題の Strittmatter らの結果と我々の結果とのくいちがいは彼らの実験のあやまりによることが明らかになった。

以上はb型チトクロームの構造に関しては, はじめての動物種間の比較研究であって, その貢献は大きく, 理学博士の学位論文として十分価値あるものと認めた。