

Title	酸化型かつお心筋チトクロムcの2.8 Å X線構造解析
Author(s)	松浦, 良樹
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31756
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/>

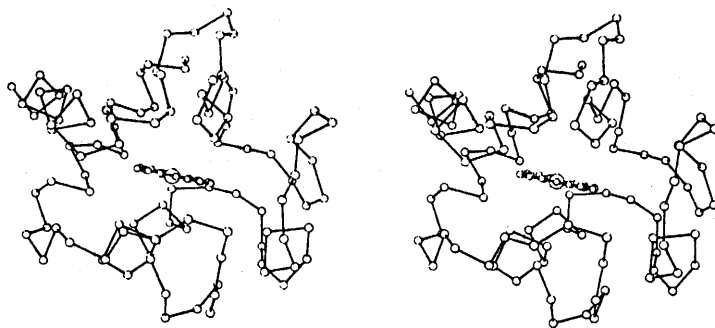
Osaka University

氏名・(本籍)	まつ 松	うら 浦	よし 良	き 樹
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	3765	号	
学位授与の日付	昭和51年12月15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	酸化型かつお心筋チトクロムcの2.8Å X線構造解析			
論文審査委員	(主査) 教授	角戸 正夫		
	(副査) 教授	田所 宏行	教授 森本 信男	教授 堀尾 武一

論文内容の要旨

チトクロムCはミトコンドリア中において、チトクロムC₁より受取った電子をチトクロムa+a₃に伝達する酵素であることはよく知られている。この電子伝達過程におけるチトクロムCの構造変化を知るため本研究ではかつおの酸化型チトクロムCのX線による結晶構造解析を行なった。

解析は硫酸塩析により得られた斜方晶系P2₁2₁2₁の結晶を用いて重原子同型置換法により行なった。重原子誘導体は酢酸ウラニルと四塩化白金カリウムのものが良好であることを見出した。回折データ処理にはLocal scalingを適用し、また溶媒効果の大きい低角反射を計算から除外することにより、系統誤差の原因を減らすようにした。重原子位置は差パターン関数および差フーリエ法により決定し、精密化は最小二乗法により行なった。得られた重原子パラメータを用いて各反射の位相を求め電子密度図の計算を行なった。2.8Å分解能での平均のfigure of meritは0.64でほぼ正しい位相の求まっていることがわかった。電子密度図から結晶学的に独立な2分子がC軸に平行な擬似の4₃らせん軸により関係づけられていることを知った。2.8Å分解能モデルはRichards boxを用いて骨格模型を最良電子密度図に合わせることににより作成した。分子は33×33×28Åの大きさであった。α-ヘリックスは残基番号の1-12, 60-69, 89-103の三ヶ所にみられる。β-構造はなく、3₁₀ bend構造が数ヶ所にみられる。分子は真中が疎水性側鎖で囲まれた空洞になっており、ヘムは一端が分子外側と接するような形で空洞に埋まっている。原子座標を読みとって内部回転角の計算とすでに解析されている還元型との構造比較に用いた。構造比較は対応するα-炭素の間の距離の平方の和を最小にする最小二乗法により行なった。両者の平均偏差は1.6Åであった。部分的には3~4Åの偏差もみられるが酸化型と還元型の間の本質的な相違とはいいがたい。α-炭素のみをつないで描いた酸化型分子立体図を



図に示す。還元型に対する図はこれと非常によく似ている。酸化型と還元型の差であると言われたフェニルアラニン82の向きはこの解析では同じであった。生化学的な研究の結果から期待されてきたような大きな構造変化はこの解析ではみられず、挙動の違いは分子表面の側鎖の状態の差などに基因するのではないかと考える。

論文の審査結果の要旨

松浦君の論文は、カツオ心筋チトクロームC・酸化型結晶のX線解析による分子構造決定の全過程をまとめたものである。還元型の構造は既に山根らにより 2.3\AA 解析が完了しているが、当時同一種の酸化・還元両型について解析比較された例はなく、Dickersonらの解析した酸化型(ウマ)と還元型(マグロ)の構造におけるPhe(82)の位置や、残基20~30における骨格の構造の不安定さを確める意味も加えこの研究が行なわれた。

カツオ・フェリチトクロームC結晶は空間群が $P2_12_12_1$ でフェロ型と同じであるが精密な解析を目的とするため、本研究ではmolecular trans.などフェロ型結晶の位相を利用する方法をとらず、全く別結晶として独立に位相決定を行ない、6, 4, 2.8\AA の3段階の解析を実行した。実際にもフェロ型と異り、同型置換重原子も試行の結果フェロ型とは全く異り、塩化白金カリ、醋酸ウラニルが最適のものとして見出された。本結晶はフェロ型に比し結晶性はやや不良で、回折の限界も 2.5\AA (native cryst)以下であることから回折強度測定は特に入念に考慮された。たとえば回折の吸収補正もFurnas法を一律に適用することなく逆空間内に適切に決められた規準回折に準拠したlocal scalingにより慎重に処理されたが、この結晶の特異な困難を克服するための同君の創意的発想によるものである。

差パターン・重原子位相・仮の蛋白質位相決定・重原子位置精密決定・最良位相の決定・最級フーリエ合成・分子モデルの作成など解析の全段階については、6, 4, 2.8\AA にそれぞれ通常の方法を適用した。特に位相計算の際、位相の確率分布関数の指数部に測定値を利用するweightの附し方に若干の改良を加えたことも新しい考えであった。

以上最終の 2.8\AA 解析におけるfigure of meritの平均値, $\langle m \rangle$ は全回折につき0.6以上で、この種結晶の解析としては第1級のものとして評価できる。同君はさらに最終分子モデルのパラメーターを測定

し、フェロ型分子パラメータとの間の α 炭素のずれの統計的計算を行ない、両型の骨格が平均 1.6\AA の偏差で一致することを見出した。これら精密な解析結果を基礎として、同君は従来の結果による電子伝達機構の仮説について適切な評価を与えて本論文を結んでいる。

以上同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る。