

Title	チトクロム酸化酵素の研究 : 活性中心間, 活性中心-タンパク間相互作用, および酵素とリン脂質膜との相互作用
Author(s)	吉田, 敏
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/32062
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	吉 田 敏
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 4 3 0 4 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 25 日
学位授与の要件	基礎工学研究科 物理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	チトクロム酸化酵素の研究 ——活性中心間, 活性中心-タンパク間相互作用, および酵 素とリン脂質膜との相互作用——
論文審査委員	(主査) 教授 大沢 文夫 (副査) 教授 三井 利夫 教授 葛西 道生 教授 大塚齊之助 教授 佐藤 了 助教授 森本 英樹

論 文 内 容 の 要 旨

チトクロム酸化酵素は、ミトコンドリア内膜にある電子伝達系の末端にあり酸素分子を還元し水に変える働きをもった膜タンパク質である。この酵素は通常の界面活性剤中に可溶化した状態では、活性中心に2個のヘム a と2個の銅を含んでおり、酸化還元電位や外部配位子に対する反応性は各々4個の活性中心とも異なっていて互いに相互作用していることが知られている。

可溶化した酸素では還元型でアルカリ処理すると575-nmに光退色性を示す吸収帯が現われることが知られていたが、この吸収帯は酵素が膜中にある時も出現することを示した。さらにこの吸収帯がヘムのホルミル側鎖とタンパク部分の相互作用によって現われることから、この吸収帯をプローブにして配位子の光解離-再結合によって極低温においてもヘム側鎖とタンパク部分の相互作用が変化することを見出した。

この酵素の働きを解明する上で活性中心間の相互作用の内容を知るのは重要であり、その1つの手掛りとしてヘム a に結合した一酸化炭素の光解離と再結合の特殊なふるまいについて研究した。この一酸化炭素は77Kで光解離するがこの温度ではまだ再結合せずにおり、170K付近まで昇温させて初めて再結合する。この再結合温度(170K)は、他のヘムタンパク質(ミオグロビンなど)の再結合温度(20~30K)とくらべて異常に高い。この再結合温度が高い理由として、ヘム a の近傍に銅がありそれが光解離した配位子をある部位に強く捕捉するのに貢献していると考えた。この考えは、銅付近の構造を修飾する処理によって77Kで一酸化炭素の光解離が観測されなくなる事実により強く支持された。またタンパク質と正常な形で結合していないヘムおよびフリーで存在するヘムの一酸化炭素複合体は、極低温で光解離しなくなる事実を見出し、従来の、ヘムの一酸化炭素複合体は光解離する

という通念に疑問をなげかけると共に、一酸化炭素の光解離のメカニズムおよび光照射後の吸収スペクトルの変化の解釈に対してもいくつかの提案を行なった。

この酵素は膜タンパク質であるから、リン脂質膜の物理化学的性質の変化の影響を受ける。この酵素を人工膜小胞に取りこませ、膜の相の状態および相転移が酵素活性の活性化エネルギーに影響することを示すと共に、20℃付近に膜の相転移とは関係なく酵素自体に構造転移が起ることを示した。また、この構造転移は、リン脂質膜が固相状態の時はほとんど抑えられるが、流動相にある時は現われることを示した。

論文の審査結果の要旨

本論文は溶解状態、及び膜に存在する状態のチトクロム酸化酵素についての研究をのべたものである。ヘムが一酸化炭素を結合している場合及び結合していない場合について低温における光照射後の高いPHにおけるヘムと蛋白部分との結合状態の変化とヘムと一酸化炭素の再結合を温度を上昇させつつわしくしらべ、その結果から、蛋白部分に温度に依存した構造のゆらぎのあること、ヘムから解離した一酸化炭素が蛋白部分に捕捉されていることを推論した。

次にこの酵素を種々の脂質膜にうめこみ、その活性と温度との関係をしらべ、脂質が流動相を作るときは、酵素分子の構造が、溶解状態と同じ温度で転移をおこすこと、脂質が固相を作るときは、この転移が抑えられることを明らかにした。

以上本論文は非常に興味ある知見を与えたもので博士論文として価値あるものと認める。