The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	タカアミラーゼAの3.0Å分解能でのX線構造解析
Author(s)	楠木, 正巳
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32625
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

【5】

氏名・(本籍)	楠(くす)　木(のき)　正(まさ)　巳(み)
学位の種類	理　学　博　士
学位記番号	第　4859　号
学位授与の日付	昭和55年3月25日
学位授与の要件	理学研究科　高分子学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**タカアミラーゼAの3.0Å分解能での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 藤田　博　助教授 田中　信夫

論文内容の要旨

タカアミラーゼA（以後TAAと略す）はコウジカビ（Aspergillus oryzae）の産生するα-アミラーゼで，デンプンなどのα-1,4-glucosidic linkage, phenyl-α-maltosideなどのmaltosidic linkageを加水分解する分子量約5万の蛋白質である。本研究ではTAAの重原子同型置換法によるX線結晶解析を行なった。

TAAはタカジアスターゼより抽出，精製し，硫安で結晶化した。空間群は$P2_1$，格子定数はa=91.9Å，b=133.3，c=94.3，β=102.7°で非対称単位中にTAA分子3個が含まれる。非対称単位の大きさ，すなわち独立なBragg反射の数は現在まで高分解能で解析された蛋白質結晶の中では最大である。3Å分解能の解析には3種類の重原子置換結晶を用いた。X線回折データの収集には117個の結晶を使い，約30万個の反射を測定した。反射の数が膨大で，その測定に非常に時間がかかるため，測定装置のソフトウェアを根本的に作り直した。これによってデータの測定時間が3分の1に圧縮された。重原子の位置は差のパターソン関数，差のフーリェ合成で決定した。最小自乗法によるパラメータの精密化を行ない，3Å分解能の電子密度図を得た。平均のfigure of meritは0.73であった。TAA1分子上に結合する十数個の重原子の位置から結晶学的に独立な3分子の位置関係を決定し，3分子密度図を平均して，非常にノイズの少ないフーリェ図を得た。これに基づき分子の骨格モデルを作製し，その三次元構造を解明した。TAAの分子構造の特徴は次のとおりである。分子の大きさは35×45×80Åで2つのdomain, main domainとC-terminal domainから構成されている。9本のα-helixがmain domainは，4本のβ-sheetがC-terminal domainに含まれている。2本の短い3_{10} helixと21個のreverse turnがある。main domainに約25×15Åのcleftがあり，アミラーゼの活性

部位がこの中にある。現在までに約100個のアミノ酸側鎖を，特に活性部周辺を重点的に一次構造の情報に基づきassignした。

アミラーゼのX線解析は今回の研究が初めてである。リゾチームなどではX線解析の結果に基づいた様々な生化学的研究が行なわれているが，アミラーゼの研究も本論文の成果により加速度的に進歩することが期待される。

論文の審査結果の要旨

楠木君の論文は，コウジカビ（Aspergillus oryzae）の産生するα-アミラーゼ，タカアミラーゼA（TAA）のX線結晶解析による分子骨格構造決定に関する研究をまとめたものである。TAAはデンプンなどのα-1,4-glucosidic linkage, phenyl-α-maltosideなどのmaltosidic linkageを加水分解する分子量約5万の蛋白質で，本研究ではその3Å分解能における解析を実行した。

TAAはタカジアスターゼより抽出，精製し，硫安で結晶化した。空間群は$P2_1$，格子定数はa=91.9Å, b=133.3, c=94.3, β=102.7°で非対称単位中にTAA分子3個が含まれる。非対称単位の大きさ，すなわち独立なBragg反射の数は現在まで高分解能で解析された蛋白質結晶の中では最大である。3Å分解能で解析には3種類の重原子置換結晶を用い，そのX線回折データの収集には全部で117個の結晶を使い，約30万個の反射を測定した。反射の数が膨大で，しかもその精度も要求されることから，先ずその測定装置のソフトウェアを根本的に作り直している。重原子の位置は差のパターソン関数，差のフーリェ合成，及び最小自乗法によるパラメータの精密化を行ない，次いで最良位相の決定から3Å分解能の電子密度図を得た。平均のfigure of meritは0.73であった。また別にTAA1分子上に結合する十数個の重原子の位置から結晶学的に独立な3分子の相対位置を決定し，3分子の電子密度図を平均して，非常にノイズの少ないフーリェ図を得るなど独得の工夫を成功させている。作成されたTAAの分子構造モデルの特徴は，(1)分子の大きさは35×45×80Åで2つのdomain, main domainとC-terminal domainから構成されており，(2)9本のα-helixがmain domainに，4本のβ-sheetがC-terminal domainに含まれ，(3)2本の短い3_{10} helixと21個のreverse turnがある。(4) main domainに約25×15Åのcleftがあり，アミラーゼの活性部位がこの中にある。またこれら分子骨格の概要は，triose phosphate isomeraseの構造と極めて類似していることが示され，興味ある発見となった。

以上，同君の研究は，世界で最初のアミラーゼ分子骨格の発見であり，今後の生化学的研究に重要な資料を加えたもので，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。