Osaka University Knowledge Archive

Title	酵母チトクロームCペルオキシダーゼの一次構造
Author(s)	瀧尾, 擴士
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32842
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【21】

氏名・(本籍)	瀧尾擴士
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 5087 号
学位授与の日付	昭和55年9月30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	**酵母チトクロームCペルオキシダーゼの一次構造**
論文審査委員	(主査) 教授 成田耕造 (副査) 教授 池中徳治 教授 松原央

論文内容の要旨

還元型チトクロームcの過酸化水素による酸化を接触する本酵素(E.C.1.11.1.5)は，293のアミノ酸残基からなる一本鎖ポリペプチドと，三価の鉄を含むプロトポルフィリンⅨとから構成されている。

分子中に一個存在するチオール基は，沃度酢酸との反応性から分子内に埋没していることが推定された。此の推定は，長期間保存した酵素標品に於ても，ジスルフィド結合形成による二量体の生成が認められないこととよく一致する。

カルボキシメチル化したアポ蛋白質の，トリプシン及びキモトリプシン消化物より，それぞれ28種及び47種のペプチドが単離された。それらのアミノ酸配列はダンシル・エドマン法により決定され，各々分子全体の七割及び八割に相当することが判明した。総合した結果は分子の九割を占めることが示された。それらのペプチドの相互関係と欠損部分の構造を知るため，更に二種の特異的切断法が応用された。

シアノゲンブロマイド分解により，五種のフラグメントと遊離のホモセリンが単離された。数種の副生成物も単離され，それらは不完全切断による重複ペプチド及び，分子中に二個存在する酸に不安定なアスパルチルプロリン結合の切断に由来するものと判明した。又，可逆的修飾，シトラコニル化を施したカルボキシメチル化アポ蛋白質より，トリプシン消化によって十種のペプチドが得られた。此等の比較的大きなフラグメントは，液相法による自動エドマン分解により分析された。以上四種の切断法から得られたアミノ酸配列及びアミノ酸組成を総合して，全一次構造が決定された。分子量は34,036と算出された。この値は，SDSゲル電気泳動より得られていた推定分子量とよく一致する。

此等の結果は，X線回析によりポウロス等の得た 2.5オングストロームの分解能の電子密度分布図

の解釈に用いられ，本酵素の活性発現に際して重要な役割を演ずるアミノ酸残基は，アルギニン(48)トリプトファン(51) ヒスチジン(52) 及びヒスチジン(174) と推定された。本酵素の特徴とも言うべき，蛋白質由来の安定遊離ラヂカルの形成部位は，トリプトファンのインドール環に由来するという推定が，プロトヘムの面より3.6Åの距離に前記トリプトファン残基が存在することが示され，裏付けされた。

二次構造の推定，類似アミノ酸配列をもつ蛋白質の検索，及び一次構造と提唱されている三次構造との関連，基質との結合部位等についても討論されている。

論文の審査結果の要旨

酵母チトクロームcペルオキシダーゼは，ペルオキシド存在下にチトクロームcを酸化すると同時にペルオキシドを還元する反応を触媒する酵素で，一本のポリペプチド鎖中に 293個のアミノ酸，3価の鉄を含むプロトポルフィリンⅨを1個含有している。酵素も基質もプロトヘムを含有するため，酵素反応の分光学的研究は進んでいたが，その一次構造と立体構造が不明のため，酵素反応の機構を分子レベルで解明することは困難であった。

瀧尾君はチトクロームcペルオキシダーゼのアポタンパク質の一次構造を決定し，X線結晶解析による立体構造の解明に寄与し，酵素反応の分子レベルにおける機作の解明をこころざした。1個含有されるSH基をカルボキシメチル化したのち，トリプシン消化，キモトリプシン消化，CNBrによるメチオニル結合の切断，酸によるAsp-Pro結合の選択的切断などの方法により，得られる多数の大小のペプチドを分離，精製し，それらの構造を決定して分子量34,000の本酵素の全一次構造の決定に成功した。この結果は，Krautらとの共同研究によるX線結晶解析(2.5Å) を速やかに完成させることができ，Arg-48,Trp-51,His-52,His-174が活性に重要な残基であることを明らかにした。これら両His残基のイミダゾール基はプロトヘムに配位し，その平面から3.6Åの位置に存在するTrp-51のインドール基はプロトヘムとπ電子相互作用し，本酵素の活性残基の一つであることを明らかにした。

以上の瀧尾君の研究結果は，ペルオキシダーゼの反応機構を分子レベルで解明する上に大きな寄与をなすものと考えられ，理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。