



Title	ストレプトマイシス エリスレウス リゾチームの三次元構造 (2.4 Å 分解能)
Author(s)	原田, 繁春
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33263
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)	はら 原	だ 田	しげ 繁	はる 春
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	5593	号	
学位授与の日付	昭和	57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	ストレプトマイシス エリスレウス リゾチームの三次元構造 (2.4 Å分解能)			
論文審査委員	(主査) 教 授 角戸 正夫			
	教 授 池中 徳治 助教授 田中 信夫			

論 文 内 容 の 要 旨

Streptomyces erythraeus の培養液中に見出されるリゾチーム(SEリゾチーム)はニワトリの卵白中に存在するリゾチーム(HEWリゾチーム)など脊椎動物のリゾチームとは少し異なった性質をもっている。例えはHEWリゾチームは分子量が約14000であるのに対し、SEリゾチームは約22500でアミノ酸組成、一次構造が全く異なっている。基質特異性についても、HEWリゾチームは*M. lysodeikticus*の細胞壁やchitinを加水分解するが、*S. aureus*の細胞壁はしないのに対し、SEリゾチームは両細胞壁を加水分解するがchitinはしないという差異がある。このような違いの生ずる原因を構造論的に解明し、又SEリゾチームとHEWリゾチームの立体構造を比較することによって両者が一つの蛋白質から分化し進化してきたのか、あるいは異なった蛋白質から特定の機能をもつ蛋白質に進化しようとしているのかを解明する為にX線結晶構造解析法によってSEリゾチームの分子構造を決定した。

結晶は4%の蛋白質水溶液を20%飽和の硫酸アンモニウム水溶液に対して透析することによって得られた。空間群はP 2, 2, 2, で格子定数はa=49.93Å, b=62.06Å, c=67.56Å, 非対称単位中に蛋白質1分子を含んでいる。構造解析は重原子同型置換法で行なった。重原子誘導体はK₂PtCl₆あるいはUO₂(NO₃)₂·6H₂Oを含む30%飽和の硫酸アンモニウム水溶液に結晶を浸すことによって白金誘導体及びウラン誘導体を得た。native結晶、白金及びウラン誘導体結晶の回折強度データは四軸型自動回折計で測定し結晶中の電子密度分布の計算に用いた。分子構造の解析は6Å, 2.9Å, 2.4Åと3つの段階で行なった。6Å分解能では結晶中の分子境界や分子の形状を、2.9Å分解能では分子の主鎖の構造を決定した。更に一次構造の情報をもとに2.4Å分解能で側鎖の同定を行ない約87%の原

子の位置を決定した。分子モデルは SE リゾチームが 2 つの domain から成りヘリックス含量が約 17 %, β 構造が約 19 % であることを示している。又、活性部位と思われる裂け目があり、これは inhibitor ([GlcNAc $\beta(1 \rightarrow 4)$ MurNAc]) との複合体結晶を調製し解析することによって活性部位であると確認された。又、基質の結合の様子や反応機構は複合体結晶の解析から HEW リゾチームと同じであると考えられ、Glu34 と Asp16 が活性に直接関与する残基と思われる。しかし活性部位の構造は HEW と SE リゾチームの間に何の類似性も見出されなかった。基質特異性の違いは活性部位の裂け目の深さや蛋白質分子と基質との相互作用の違いで説明できた。

以上の結果をまとめると、SE リゾチームと HEW リゾチームは分子の大きさ、一次構造、立体構造が全く異なるにもかかわらず、基質の結合の様子や反応機構はきわめて似ているという結論になった。従って SE リゾチームは HEW リゾチームとは異なった祖先から進化しバクテリアの細胞壁を加水分解するという機能をもつに至ったと考えられる。

論文の審査結果の要旨

生物界に広く存在するリゾチームは分子量や基質の違いなどから 4 種類に大別される。原田君の論文はこれらのうち *Streptomyces erythraeus* の產生するリゾチーム及び基質類似物質との複合体の立体構造を X 線結晶解析法によって解明し、本酵素の活性発現機構を明らかにした。論文は次の 3 つから成る。

- (1) リゾチームの結晶解析における各反射の位相決定は 2 種類の同型置換結晶及びそれらの異常分散効果を利用して行なった。これらの位相による 2.4 Å 分解能での最良電子密度分布と池中教授らによる一次構造の結果を併用することにより立体構造を決定することに成功した。その結果、主鎖の流れや側鎖の立体配置を明らかにしたが、さらに束縛下での最小二乗法によって構造を精密化した。
- (2) 基質類似物質である NAGNAM との複合体の構造解析は差フーリエ法によって行ない、リゾチームの分子表面に存在する溝に NAGNAM が結合することを見出し活性部位を明らかにした。
- (3) 本研究の結果を既に報告されているニワトリの卵白リゾチーム、T 4 ファージリゾチームの構造と比較することによって立体構造の類似性がないにもかかわらず触媒基として Glu, Asp が存在することを見出した。又、これらの比較からリゾチームの分子進化について推論した。

以上のように原田君の研究は *Streptomyces erythraeus* の產生するリゾチームの立体構造を明らかにし、リゾチームの触媒機構解明のための重要な貢献であると考えられる。従って、本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。