



Title	リボヌクレアーゼT1のX線結晶構造解析
Author(s)	杉尾, 成俊
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34718
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【2】

氏名・(本籍)	すぎ	お	しげ	とし
学 位 の 種 類	杉	尾	成	俊
学 位 記 番 号	第	6 8 4 5	号	
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 60 年 3 月 25 日			
学 位 授 与 の 要 件	薬学研究科 薬品化学専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学 位 論 文 題 目	リボヌクレアーゼT ₁ のX線結晶構造解析			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 富田 研一			
	(副査) 教 授 池原 森男 教 授 北川 熱 教 授 枝井雅一郎			

論 文 内 容 の 要 旨

タカジアスターーゼより従来種のRNaseT₁をアフィニティクロマトグラフィーを用いて抽出・精製した。RNaseT₁-2'GMP複合体及びRNaseT₁-3'GMP複合体の結晶化は、2-メチル-2,4-ペンタジオールを沈殿剤とし、pH 4.0で蒸気拡散法により行った。両複合体とともに結晶の空間群はP2₁2₁2₁で、非対称単位中に1複合体分子を含み、格子定数はRNaseT₁-2'GMP複合体ではa = 46.65 (1), b = 50.26 (1), c = 40.60 (1) Å, RNaseT₁-3'GMP複合体ではa = 47.58 (1), b = 50.92 (1), c = 40.32 (1) Åであった。

RNaseT₁-2'GMP複合体のX線結晶構造解析においては、酢酸ウラニル及び硝酸ランタン誘導体を用いた重原子同型置換法により2.4 Å分解能での初期構造を決定した後、立体化学的制約条件下での最小自乗法を用いて1.9 Å分解能での分子構造の精密化を行った。6396個の回折強度についてのR因子は0.195であった。

RNaseT₁-2'GMP複合体でのポリペプチド鎖のfoldingは、アミノ酸残基1個が置換されたisoRNaseT₁-2'GMP複合体 [Heinemann & Saenger (1982) Nature 299, 27-31] とほぼ同じで、2次構造としては4.5回転のα-helixと、それにはほぼ直角に層積した4本鎖の逆平行β-sheetがある。本複合体中の2'GMP分子では、リボース環のパッカリングがC 2'-endo型であり、グリコシド結合回りのコンフォメーションはsyn型であった。グアニン塩基部分は4本の水素結合及び2つのチロシン残基の側鎖芳香環とのスタッキング相互作用により酵素分子と結合していた。一方、糖部分と酵素との特異的な相互作用はみられなかったが、2'-リン酸基部分は3本の水素結合によって酵素と結合していた。isoRNaseT₁-2'GMP複合体の場合、グアニン塩基とチロシン残基側鎖とのスタッキング様式は本複合

体と同様であるが、グアニン塩基及びリン酸基と酵素分子との水素結合はそれぞれ2本と1本であり、2'GMPと酵素とはよりゆるやかに結合していることになる。また、酵素反応時の基質としては必須ではないものの、反応阻害物質としての結合には重要と考えられているグアニン塩基のN2, N7位での酵素分子との相互作用が、本複合体ではみられたが、isoRNaseT₁ - 2'GMP複合体ではみられなかった。両複合体におけるこのような活性部位の立体構造の相違についての考察を行った。

RNaseT₁ - 3'GMP複合体のX線結晶構造解析では、前述のRNaseT₁ - 2'GMP複合体結晶における酵素の主鎖原子の座標を用い、逐次Fourier合成によって2.6 Å分解能での分子構造を決定した。現時点において2432個の回折強度についてのR因子は0.274である。

本複合体におけるポリペプチド鎖のfoldingはRNaseT₁ - 2'GMP複合体の場合とほぼ等しく、すべての α -炭素原子による自乗平均変位は0.72 Åであった。酵素に結合した3'GMP分子のうち、グアニン塩基部分に対応する高い電子密度のピークが得られており、この部分と酵素分子との間の特異的な相互作用はRNaseT₁ - 2'GMP複合体の場合と同様であった。一方、3'GMPの糖-リン酸部分に相当する位置には明瞭な電子密度のピークは得られていない。沪紙電気泳動法によって調べたところ、結晶中で3'GMP分子は分解されていないことが確認されたので、本複合体結晶中で3'GMP分子の糖-リン酸部分は一定の位置に固定されていないものと考えられる。

以上、RNaseT₁ - 2'GMP複合体及びRNaseT₁ - 3'GMP複合体のX線結晶構造解析から、RNaseT₁の分子構造及び酵素-基質（類似物質）相互作用機構についての新しい知見を得ることができた。

論文の審査結果の要旨

杉尾君は、酵素蛋白質の分子構造決定および蛋白質・核酸相互作用機構解明を目的として、リボヌクレアーゼT₁・2'GMP分子複合体およびリボヌクレアーゼT₁・3'GMP分子複合体結晶のX線結晶構造解析を行い、リボヌクレアーゼT₁の3次元分子構造を明らかにするとともに、pH=4.0におけるリボヌクレアーゼT₁とモノヌクレオチドとの特異的な相互作用様式を見出した。

これらの業績は、酵素の構造化学や分子生物学に寄与するところ大で、薬学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。