OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome c oxidase at 2.8 A resolution
Author(s)	青山, 浩
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39919
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

氏名	青山（あおやま） 浩（ひろし）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 12348 号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子学専攻
学位論文名	Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome *c* oxidase at 2.8Å resolution （ウシ心筋チトクロム酸化酵素の活性中心の構造）
論文審査委員	（主査） 教授 月原 冨武 （副査） 教授 中村 晃　教授 高木 俊夫

論文内容の要旨

チトクロム酸化酵素は，ミトコンドリアの内膜で細胞呼吸の末端酸化酵素として機能し，チトクロム *c* を酸化し分子状酸素を水に還元するとともに，電子伝達にともなって水素イオンを内膜の内側から外側へと能動輸送する酵素である。この酵素の反応機構の理解を深めるためにもっとも必要なことは詳細な立体構造の解明である。そこでこの酵素のX 線結晶構造解析を行った。

結晶化に最も重要な要因は単離した酵素分子を水溶液中に安定化するための界面活性剤の構造であり，デシルマルトシドで安定化すると2.6Å分解能以上のX線回折能を示す結晶が得られた。この結晶を用いて重原子同型置換法によって電子密度分布を求めたところ，極めて精度の高い2.8Å分解能での電子密度が得られた。酸素還元部位と考えられるヘム a_3－Cu_B 部位とヘム a とは細胞質側の膜表面レベルから約13Å下の面に水平に並んでいる。また Cu_A は複核で細胞質側を上方にとればヘム a_3 とヘム a の上方それぞれ22Å，19Åの位置に存在していた。上記の3つの金属中心はほぼ直角三角形の頂点に位置し，Cu_A とヘム a_3 の鉄原子が構成する斜辺上にマグネシウム部位が存在する。またヘム a_3 の鉄原子と Cu_B との距離は4.5Åで Cu_B には3つのヒスチジンイミダゾールが配位していた。ヘム a_3 鉄原子と Cu_B との間には強い磁気的相互作用があるにも関わらず，両者を橋渡しするアミノ酸側鎖もイオウ原子も認められなかった。しかし水のような小さな分子の存在は否定できない。ヘム a は2つのヒスチジンイミダゾールが配位した典型的な低スピン型構造であった。Cu_A 部位では2個の銅原子を2個のシステインのS原子が架橋して四辺形を作り，各銅原子に対して，それぞれもう2個の原子が配位して，2つのシステインS原子とともに四面体を作るように配位していた。この Cu_A への配位子のうちグルタミン酸は側鎖ではなく主鎖のカルボニル基が配位していた。このグルタミン酸の側鎖部分はマグネシウムのひとつの配位子となっていた。マグネシウムは他にヒスチジン，アスパラギン酸，H_2O の3配位子を含めて四面体型配位構造をとっていた。亜鉛は上述の酸化還元活性金属部位から遠く離れてマトリックス側にあるサブユニットに結合していた。4個のシステイン残基による，ほぼ正四面体型の配位でアミノ酸配列だけから考えると亜鉛フィンガー構造が予測されるがそのようなフィンガー構造は認められなかった。また Cu_A に配位しているヒスチジンからアルギニンを介してヘム a のプロピオン酸まで水素結合の存在があきらかとなり，Cu_A からヘム a への電子伝達に関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

青山君の論文はウシ心筋のチトクロム酸化酵素の金属中心の構造研究に関するものであり，動物の膜タンパク質として最初のX線結晶構造解析である。この研究で金属中心の立体構造を確定し，この酵素の構造と機能の研究を飛躍的に発展させる基盤を確立した。よって，この論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。