The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tertiary Structure Analysis of Fully Oxidized Cytochrome c3 Using Paramagnetic Information
Author(s)	齊藤, 貴士
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45104
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　齊藤貴士（さいとうたかし）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　18218　号

学位授与年月日　平成15年12月22日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名　Tertiary Structure Analysis of Fully Oxidized Cytochrome c_3 Using Paramagnetic Information
（常磁性効果を構造情報とした完全酸化型cytochrome c_3の立体構造解析）

論文審査委員　（主査）
教　授　阿久津秀雄

（副査）
教　授　長谷　俊治　　教　授　中川　敦史　　助教授　池上　貴久

論文内容の要旨

硫酸還元菌 Miyazaki F 株の cytochrome c_3 は1分子中に4つのc型ヘムを持つ分子量約14000の電子伝達タンパク質で、いずれのヘムも他のc型ヘムに比べ著しく低い酸化還元電位を持つことを特徴としている。本論文ではNMRにより完全酸化型の溶液構造を決定し既に報告されている完全還元型の溶液構造と同じ条件下で構造比較を行うことを目的とした。しかしながら完全酸化型ではヘム鉄に存在する不対電子により常磁性を示しシグナルの幅広化など構造解析を行うのが非常に困難である。そこで本研究では近年利用されるようになってきている常磁性効果から求まる構造情報を構造解析に利用した。

第1章では本論文の研究対象である硫酸還元菌 Miyazaki F 株の cytochrome c_3 の一般的性質、及び本論文の目的を示した。

第2章では硫酸還元菌 Miyazaki F 株の cytochrome c_3 における g テンソルとポルフィリン環の非平面性の相関に関する研究が要約されている。常磁性効果から得られる情報を構造計算に用いる上で、常磁性の性質に深く関わる g テンソルの性質を調べることが重要である。これまで Miyazaki F 株の cytochrome c_3 ではそれぞれのヘムに対し異なった g 値の帰属が報告されている。そこで本章では単結晶 EPR スペクトルの解析を行い、それぞれのヘムに対する g 値の直接的な帰属を行った。この g 値をもとにそれぞれのヘム鉄における d 軌道のエネルギー準位を算出した。その結果、ポルフィリン環が S_4-ruffle 型に歪んだヘムでは d_{xy} 軌道と d_{π} 軌道のエネルギー差が減少し、逆に S_4-saddle 型に歪んだヘムではエネルギー差が増加していた。すなわち、d_{xy} 軌道と d_{π} 軌道のエネルギー差にはポルフィリン環の歪みが深く関係していると考えられる。また、配位イミダゾール環のいくつかはイミダゾレート型の性質を持つことが予想された。

第3章では硫酸還元菌 Miyazaki F 株の cytochrome c_3 における完全酸化型の溶液構造の決定を行った。NMR で完全酸化型の溶液構造を決定する上で、常磁性シフトから求まる構造情報の利用を試みた。NOE による距離情報、カップリング定数による二面角情報に加え常磁性シフトを構成する成分の1つであるヘム置換基の ^{13}C contact shift から配位イミダゾール環の角度情報を算出し構造情報として加えた。さらに常磁性シフトを構成するもう一つの成分である pseudo contact shift から求まる各アミノ酸残基の構造情報を構造計算過程において利用できるよう改良した構

造計算プログラム Dynamo 3.2 を構造計算に用いた。その結果、常磁性シフトから得られる構造情報を加えなかった構造に比べ RMSD が改善された。完全還元型の溶液構造との構造比較では、heme 1 と heme 2 の近傍、及び heme 4 の近傍で構造変化が観察された。

第 4 章では本研究で得られた結果をまとめ硫酸還元菌 Miyazaki F 株の cytochrome c_3 における構造と酸化還元過程における構造変化について総合的に考察した。単結晶 EPR スペクトル測定から各ヘムに配位しているイミダゾール環の状態はイミダゾレート型の性質を持つ物がいくつかあることが予想された。これは cytochrome c_3 の酸化還元電位を著しく低くしている要因の一つと考えられる。酸化型と還元型の溶液構造の比較における heme 1 と heme 2 の近傍の構造変化は heme 1、heme 2 間のポジティブな協同性に関わりがあると考えられる。更に heme 4 の近傍において観察された構造変化は heme 4 と他のヘムとのネガティブな協同性、並びに hydrogenase との複合体形成の制御に関与している可能性がある。

論文審査の結果の要旨

本論文は絶対嫌気性菌である硫酸還元菌 Miyazaki F 株のエネルギー変換にかかわる cytochrome c_3 の完全酸化型における磁気的性質を結晶電子スピン共鳴法で明らかにし、その溶液構造を核磁気共鳴法により決定している。これを基に、cytochrome c_3 の異常に低い酸化還元電位の原因、酸化還元における協同的相互作用を引き起こす構造的要因を初めて明らかにした。本論文は非常に還元的な環境下で生存する生物における電子伝達制御メカニズムの解明に大きく貢献するものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値があるものと認める。