

Title	STUDIES ON CYTOCHROME b-555 FROM LARVAE OF THE HOUSEFLY MUSCA DOMESTICA L. I. PURIFICATION AND PROPERTIES OF CYTOCHROME b-555
Author(s)	Okada, Yoshiie
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/619">https://hdl.handle.net/11094/619</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	おか だ よし いえ 岡 田 芳 家
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 9 1 9 号
学位授与の日付	昭 和 4 5 年 3 月 3 0 日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	家バエ幼虫のチトクローム <i>b</i> -555 (I) 精製と性質 (II) 等電点, アミノ酸組成と円偏光二 色性吸収スペクトル
論文審査委員	(主査) 教 授 奥 貫 一 男 (副査) 教 授 佐 藤 了 教 授 萩 原 文 二

論 文 内 容 の 要 旨

家バエの幼虫からチトクローム *c*, *b*-563, *b*-555 が可溶性成分として, 抽出されることが知られている。これらのうち, チトクローム *b*-555 を硫酸分画, CG-50, DEAE-セルロースおよび A-2 によるカラムクロマトグラフィーにより高純度に精製した。

精製チトクローム *b*-555 標品の室温における吸収スペクトルは酸化型で 358-360, 414, 530m $\mu$  に吸収極大を示し, また 558m $\mu$  に肩を, 278m $\mu$  に蛋白質に由来する吸収を示す。還元型では 424, 528, 555m $\mu$  に吸収極大を示し, 555m $\mu$  を極大とする  $\alpha$ -帯は非対称で 560m $\mu$  付近に顕著な肩を示す。液体窒素温度では還元型の帯は分裂し, 552 と 556m $\mu$  に吸収極大を示す。補欠分子団はプロトヘムであり, 他の多くの *b*-型チトクロームと同様自動酸化能を示すが, 一酸化炭素およびシアン化合物とは結合しない。得られた標品は超遠心的に単一で,  $S_{20,w}$  は, 1.43S, 分子量は13,700で, 標準酸化還元電位 ( $E_0'$ ) は +0.007 ボルト (12°C) である。精製チトクローム *b*-555 は家バエ幼虫から調製したミクロソーム画分あるいは, ネズミ肝臓から精製した NADH-チトクローム *b*<sub>5</sub> 還元酵素の存在下で NADH により還元されるので, この標品は酵素活性を持っていると思われる。家バエ幼虫のチトクローム *b*-555 の諸性質と他の生物種から得られたミトコンドリアに存在するチトクローム *b*<sub>5</sub>-類似のヘム蛋白質やミクロソームのチトクローム *b*<sub>5</sub> のそれらと比較検討した結果, 家バエ幼虫の精製標品はミトコンドリアに存在するチトクローム *b*<sub>5</sub>-類似のヘム蛋白質とミクロソームから可溶化されたチトクローム *b*<sub>5</sub> との混合物とも考えられる。また一方, このチトクローム *b*-555 が細胞内で可溶性蛋白質として存在するのではないことが明らかにされたので, いかなる機構で膜に結合しているものが可溶化されるのかを論議した。酸化型および還元型チトクローム *b*-555 の円偏光二色性吸収スペクトルは, ヘムおよび芳香族アミノ酸残基のまわりの環境が不斉であることを明らかにした。現在までに報告されているブ

ロトヘム蛋白質のソーレー帯の円偏光二色性吸収スペクトルの結果と比較検討し、3つの規則を提出した。アミノ酸組成は、Lys<sub>5</sub>, His<sub>2</sub>, Arg<sub>2</sub>, Asp<sub>10</sub>, Thr<sub>3</sub>, Ser<sub>4</sub>, Glu<sub>12</sub>, Pro<sub>1</sub>, Gly<sub>4</sub>, Ala<sub>6</sub>, Val<sub>6</sub>, Met<sub>1</sub>, Ileu<sub>2</sub>, Leu<sub>2</sub>, Tyr<sub>2</sub>, The<sub>3</sub> (トリプトファン, システイン, アマイド含量は求めていない。) で、現在までにアミノ酸組成が明らかにされているチトクローム *b*<sub>5</sub> と較べて、アミノ酸残基の総数が一番小さく、またヒスチジン, プロリン, ロイシンの含量が低く、アラニン, バリンのそれが高いことが明らかになった。

家バエ幼虫から得たチトクローム *b*-555 の未精製標品は等電点分画法により、二つまたは3つの成分に分離した。それぞれの成分の 0~2°C における等電点は、4.24, 4.28, 4.32 であった。それらのうち、2つの主成分間においては、吸収スペクトル, 触媒活性, 分子量, アミノ酸組成, ソーレー帯付近の円偏光二色性吸収スペクトルの点では差違は認められなかったので、この現象について論議した。

### 論文の審査結果の要旨

イエバエ (成虫) の *b* 型チトクロム (Cyt.) は容易には抽出されないが、幼虫のそれは可溶性で抽出精製され、すでに Cyt. *b*-563 は結晶として単離されている。

岡田君は含有量の小さい Cyt. *b*-555 の抽出精製法を確立し、その高純度標品を得てその分光学的性質や分子量 (13,700), 規準電位 (+0.006 V, pH<sup>7</sup>) などの物理化学的性質を詳細に測定した。さらに、Cyt. *b*<sub>5</sub> リダクターゼを用いて還元助酵素から電子を Cyt. *b*-555 に与えて還元型を生成させることや、その還元型を酸化型 Cyt. *c* で酸化させることを実験的に示して、細胞内では Cyt. *b*-555 が Cyt. *b*<sub>5</sub> の可溶型として存在し、その電子伝達系の構成員としてはたらくものと推論した。また一方、プロトヘムを有するヘムタンパク質の円偏光二色性を比較研究して、*b* 型チトクロムの特徴として、既知の(1)自酸化性を示すが CO や青酸塩などの配位子とは結合しない、(2)規準電位が 0 ボルト付近にあることのほかに新たに (3) Soret 帯による円偏光二色性スペクトルにおいて、酸化型も還元型も深い谷を示すことを追加した。

以上要するに岡田君の談文は昆虫の発生現象に生化学的知見を寄与するところが大きいから理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認める。