

氏名 森 栄 五
もり えい ご
 学位の種類 農 学 博 士
 学位記番号 農 博 第 293 号
 学位授与の日付 昭 和 54 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
 研究科・専攻 農 学 研 究 科 食 品 工 学 専 攻
 学位論文題目 STUDIES ON THE STRUCTURE OF RICE
 CYTOCHROME C
 (イネチトクロムCの構造に関する研究)

論文調査委員 (主査)
 教授 森田雄平 教授 千葉英雄 教授 岩井和夫

論 文 内 容 の 要 旨

本論文はイネチトクロムCの化学構造上の特徴を明らかにすることを目的として、この蛋白質の一次構造を決定し、これをもとに規則的な二次構造を予測し、あわせてX線解析を行なった結果をとりまとめたものである。

著者は米糠からチトクロムCを抽出し、塩析分画、イオン交換ならびにゲル過クロマトグラフィーにより精製したのち、硫酸アンモニウム溶液から結晶化した。これをエタノールで変性させ、CNBr 開裂、トリプシン、キモトリプシン、サーモリニン消化を逐次行ない、各段階で生成した断片ペプチドを単離精製し、精製ペプチドについて消去式エドマン法、エドマンダンシル法を併用してアミノ酸配列を決定した。これらの解析結果を総合して111アミノ酸残基からなるイネチトクロムCの一次構造を次のように確定した。

Ac-Ala-Ser-Phe-Ser-Glu-Ala-Pro-Pro-Gly-Asn-Pro-Lys-Ala-Gly-Glu-Lys-Ile-Phe-Lys-Thr-Lys-Cys-Ala-Gln-Cys-His-Thr-Val-Asp-Lys-Gly-Ala-Gly-His-Lys-Gln-Gly-Pro-Asn-Leu-Asn-Gly-Leu-Phe-Gly-Arg-Gln-Ser-Gly-Thr-Thr-Pro-Gly-Tyr-Ser-Tyr-Ser-Thr-Ala-Asn-Lys-Asn-Met-Ala-Val-Ile-Trp-Glu-Glu-Asn-Thr-Leu-Tyr-Asp-Tyr-Leu-Leu-Asn-Pro-TML-Lys-Tyr-Ile-Pro-Gly-Thr-Lys-Met-Val-Phe-Pro-Gly-Leu-TML-Lys-Pro-Gln-Glu-Arg-Ala-Asp-Leu-Ile-Ser-Tyr-Leu-Lys-Glu-Ala-Thr-Ser (但しTML: トリメチルリジン) この一次構造を既知の他の植物チトクロムCの一次構造と比較し、単子葉植物、イネ科の一例としてのイネチトクロムCの構造上の特徴を指摘した。

ついでファスマン法により、イネチトクロムCの一次構造からその二次構造を予測し、5-10, 53-64, 89-101に α -ヘリックス領域が、また18-21, 29-32に β -構造領域が存在することを示唆した。

さらに三次構造解析を目的として、単結晶についてX線解析を行ったが、重原子多重同型置換法による解析がきわめて困難なため、通常CuK α 線のほかにCoK α 線を利用する方法、異常分散を利用する方法などを導入して、新しい位相決定を法開拓し、結晶格子内の鉄原子座標、チトクロムC分子の配列様式

を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

真核生物の呼吸鎖の一員として電子伝達機能をもつチトクロムcは、分子量が小さく精製も比較的容易であるため、多くの生物起源のもの一次構造が決定されて、生物の系統分類や分子進化の分野で新しい視点を提供している。高等植物起源についてもすでに20種のチトクロムcの一次構造が報告されているが、単子葉植物起源、とくにイネ科のものについてはほとんど知られていない。著者は多量の米糖を材料としてチトクロムcを精製結晶化し、主として消去式エドマン法にしたがって111アミノ酸残基から構成されるイネチトクロムcの一次構造を決定した。

イネチトクロムcでは、(1)アミノ末端がアセチル化されていること、(2)高等動物起源のものにくらべてアミノ末端側に8アミノ酸残基延長していること、(3)リジン2個がトリメチル化されていること、(4)プロリン含量が多く、Pro-Gly または Gly-Pro の配列が多く認められること、など植物チトクロムcの特徴を備えているが、他方他の植物起源のものにくらべて数箇所においてアミノ酸残基の置換が認められ、単子葉植物(イネ科)起源に由来する特徴を明らかにするなど、植物分類学、植物系統学上貴重な知見を得ている。

また著者は一次構造の知見をもとにして、規則的二次構造を計算予測し、植物チトクロムcの立体構造と、それに由来する物理化学的性質の特徴について考察している。蛋白質の立体構造決定にはX線回折法による解析が必要であるが、著者はイネチトクロムcの単結晶について解析を試みている。この際通常の高原子多重同型置換法の応用が困難であったので、異種線源と、含有鉄原子にもとづく異常分散効果とを巧みに利用して、解析に必要な位相決定について新しい方法を応用した。この解析の結果、結晶格子内の鉄原子座標と蛋白分子の配列様式を決定している。

以上のように本論文は、植物チトクロムcの構造について重要な新知見を加えたもので、蛋白質化学、植物生化学の分野において貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。