

氏 名	南 條 典 昭 なん じょう のり あき
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 341 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 43 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	医 学 研 究 科 社 会 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	C-TYPE FERRI AND FERROHEMOCHROME FORMATION BETWEEN HEMIN C, AMINO ACID AND PEPTIDES (チトクロームCの吸収スペクトルに関するモデル実験)
論文調査委員	(主 査) 教 授 西 尾 雅 七 教 授 早 石 修 教 授 藤 原 元 典

論 文 内 容 の 要 旨

チトクロームCにおけるFe原子は、ポルフィリンの4個のピロールの各N原子と、蛋白中のいずれか2個のアミノ酸と、合計6個の配位子をもって Octahedral complex を形成していると考えられている。チトクロームCは還元型において、この配位に基因すると思われる特徴的な可視部におけるヘモクロモーゲンの吸収を示す。このヘモクロモーゲン形成にあずかる2個のアミノ酸については、これまでの研究で、第五配位座はヒスチジンであることはすでにわかっているが、残りの第六配位座については、これまで Theorell らのヒスチジン説, Margoliash らのリジン説等があり、最近では Harbury の報告したメチオニン説が注目されているが、なお十分に解明されたとはいえない。

著者は、まずプロトポルフィリンを還元して、そのビニール基にシスチンを結合させ、酸化後、鉄を導入して、チトクロームCの最も基礎的な構造と考えられるヘミンCを合成し、また牛心チトクロームCをペプシン、トリプシンで逐次消化して heme octapeptide (H8PT) Cys-Ala-Glu(NH₂)-Cys-His-Thr-Val-Glu を精製し、これらにピリジン、イミダゾール等のほか、各種アミノ酸、および固相ペプチド合成法で合成したペプチドを、いろいろな条件で配位子として与え、得られた吸収スペクトルを解析、分類した。その結果、チトクロームCの蛋白部分を構成するアミノ酸のうち、第六配位座を占めるものは、ヒスチジン、メチオニン、トリプトファンの三者のうちのいずれかであることを明らかにした。

この三者のうち、ヒスチジンは、ヘミンCまたは H8PT に配位して、チトクロームCとほとんど同じ吸収スペクトルを示すが、ヒスチジン1個しか含まないチトクロームCでも、完全なヘモクロモーゲンを画くこと、および最近のX線解析の結果から、第六配位座のヒスチジンの可能性は減少しつつあると考えられる。

次に、メチオニンおよびアセチルメチオニンは、ヘミンCまたは、H8PT に配位して、ヘモクロモーゲンの吸収スペクトルを示すが、 α band と β band の吸光度の比 α/β が、チトクロームCのそれと比較して非常に小さく、しかも、 α band, β band の位置がともにチトクロームCのそれより明らかに長波

長側に、約 2~2.5 $m\mu$ ずれていることを観察した。メチオニンを含むペプチド Pro-Gly-Thr-Lys-Met-Ileu-Phe-Ala も H8PT に配位して、His-Fe-Met という Complex を作るが、この場合、ヘモクロモージェンの α/β は 1.46 で、アセチルメチオニンの場合の 1.36 より、チトクローム C の α/β の値に近づくが、その吸収極大は、常に 552 $m\mu$, 522 $m\mu$ に記録され、明らかにチトクローム C のヘモクロモージェンと異なるものである。

一方、トリプトファンは、中性域において、ヘミン C または H8PT の酸化型にだけ配位して、チトクローム C と同様の吸収像を示す。また、トリプトファンを含むペプチド Acetyl-Thr-Try-Lys-Gly を H8PT に添加すれば、酸化型、還元型ともに、容易にチトクローム C と全く同様の吸収スペクトルを形成する。この事実は、このペプチド中のトリプトファンのインドールが、H8PT の Fe 原子に配位したためと考えられる。

現在までに、25の異なった種属のチトクローム C の一次構造が明らかにされているが、そのいずれにも共通に、N 末端から 59 番目に、ただ 1 個だけトリプトファンが存在し、不可欠なものであらうと考えられていたが、その意義が判らなかつた。この実験結果は、チトクローム C におけるトリプトファンの配位子としての可能性を提示するものである。

ヘマトヘミン、メゾヘミン、デューテロヘミン、プロトヘミンについても同様に実験を行なったが、チトクローム C 型の吸収スペクトルは、得られなかつた。チトクローム C 型の吸収スペクトルは、チオエーテル結合をもつメゾタイプのヘミンに限られることも実証した。

論文審査の結果の要旨

チトクローム C の鉄原子はポルフィリン核の 4 個のピロールの各 N 原子と蛋白中のいずれか 2 個のアミノ酸と計 6 個の配位座をもって Octahedral complex を形成している。その結果特徴的な可視部におけるヘミンならびにヘモクロモージェンの吸収を示す。このヘモクロモージェン形成にあずかる 2 個のアミノ酸については Theorell の two Histidine 説、Margoliash の Histidine-Lysine 説、Harbury の Histidine-Methionine 説があるが、なおじゅうぶんに解明されていない。

南条はヘミン C (メゾヘミン—システイン) とヘム 8—ペプチド (H8PT) (Cys-Ala-Glu-Cys-His-Thr-Val-Glu) をそれぞれ合成または天然物より分離し、これらに各種のアミノ酸、ペプチドを色々な条件で配位子として与え、えられた吸収スペクトルを解析、分類した。その結果、His, Met, Trp の三者が鉄と配位することが明らかになった。His は吸収像の上からは第五、第六の二つの配位座を占めるように見えるが、最近の X 線解析や合成の研究からただ 1 個 (18 番目) の His のようである。Met ならびに Met を含むペプチドで特に His-Fe-Met と配位させると C 型の吸収像を示すが α 帯と β 帯の比が天然物に比し小さく、かつ、波長が 2~2.5 $m\mu$ 長波長にずれている。一方 Trp は中性域においてヘミンまたは H8PT の酸化型に配位するが、Trp を含むペプチド Ac-Thr-Trp-Lys-Gly では酸化型、還元型ともにチトクローム C と同様の吸収スペクトルを形成する。この事実はチトクローム C における 59 番目の Trp の配位子としての可能性を提示するものである。

本論文は学問的に有益であつて医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。