

氏名(本籍)	わた なべ のぶ ひさ (岡山県) 渡 辺 信 久 (岡山県)				
学位の種類	理 学 博 士				
学位記番号	博 甲 第 641 号				
学位授与年月日	平成元年3月25日				
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当				
審査研究科	物理学研究科				
学位論文題目	Crystal Structure Analysis of ω -Amino Acid : Pyruvate Aminotransferase at 2.0 Å Resolution (2 Å分解能における ω -アミノ酸：ピルビン酸アミノ酸アミノトランスフェラーゼの結晶構造解析)				
主査	筑波大学教授	理学博士	長 沢	博	
副査	筑波大学教授	理学博士	石 坂 昭 三		
副査	筑波大学教授	理学博士	福 谷 博 仁		
副査	高エネルギー物理学 研究所教授	理学博士	坂 部 知 平		

論 文 の 要 旨

生体中で重要な役割を果たしているアミノ酸酵素蛋白の結晶構造解析は、アスパラギン酸アミノ酸(Asp-AT)について、唯一例知られているのみであった。本論文は、 ω -アミノ酸・ピルビン酸アミノトランスフェラーゼ(ω -APT)結晶について2 Åの分解能における結晶構造解析を行ったものであり、アミノ酸酵素蛋白について第2例に当る研究である。

ω -APTは分子量が172,000で約400個のアミノ酸残基よりなることが、生物化学的研究により報告されていたが、その分子配列もプレミナリーなもので、未知の部分も多く結晶学的な確定を必要としていた。本研究で用いた結晶は、与那覇ら(琉球大)により精製され、森田ら(京大)が単晶化及び重原子誘導体化したものである。X線構造解析の測定は、高エネルギー物理学研究所放射光実験施設のシンクロトロン放射光をX線源として、その検出にはイメージングプレートを利用した巨大分子ワイセンベルグ・カメラにより回析像とその強度を観測した。この方法では、逆格子空間の必要な範囲の観測するために30分間のX線照射で十分であった。従って結晶は放射線損傷をうけていないと考えられた。

まず、重原子を含まぬ結晶と重原子を誘導化された結晶に対する回析データについて、差パターン合成及び差フーリエ合成により重原子位置を決定した。この重原子の座標を用いて、各反射の位相を決定した。このようにして得られた独立な30,212ヶの反射に対して、フーリエ計算を行い、空間上の電子密度分布図を得た。次に、電子密度分布図を用いて、分子を構築する作業があるがこ

れについては、3次元グラフィクス・プログラム FRODO が用いられた。その結果、441個のアミノ酸残基からなるこの酵素蛋白のポリペプチド主鎖がトレースされた。このうち360残基については、与那覇らの1次構造の情報を参考にして、側鎖の構造も決定出来た。

このようにして、決定された ω -APTは2次構造として、1サブユニット中に12本のヘリックスと3枚の β シート構造をもつことがわかった。この中でヘリックスは、サブユニットの外側に分布しており、一方シート構造は内側に配置されていた。

ω -APTの結晶構造を要約すると、この蛋白のサブユニットは3つの部分に分けられる。N末端付近のアームと7本の β 鎖のシート構造を含む大ドメインともう一つの小ドメインである。各ドメインは疎水性コア構造により安定化している。また解離性アミノ酸は全てサブユニットの表面に存在していることがわかった。

審 査 の 要 旨

本論文により明らかになった ω -APTのサブユニットの2次構造とトポロジーを今まで報告のあった唯一の例であるアスパラギン酸アミノ酸トランフェラーゼ (Asp-AT) と比較すると両者の間に高い類似点があることがわかった。特に、大ドメイン中の7本の β 鎖からなるシート構造とそのまわりのヘリックスは、両酵素間で重ね合わせることができた。この極めて高い相関は、両酵素が共通の祖先から分子進化した可能性を暗示しており興味深い。

又、補酵素 PLP 分子は、サブユニット間の境界およびサブユニット中のドメインの境界付近に存在していることが明らかになった。この結果は、 ω -APTのアミノ酸代謝として β -アラニンのアミノ基をピルピン酸に転移する反応を触媒する機能の解明に重要な手がかりを与えるものである。

以上、本論文は、巨大分子構造をもつアミノ酸酵素蛋白の複雑な構造を解明し、この分野の研究に大きな貢献を与えるものとして高く評価される。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認められた。