

## 理学博士奥貫一男君の「チトクローム系の研究」に対する

### 授賞審査要旨

チトクローム類は殆どすべての生体組織に含まれているヘム蛋白質であつて細胞呼吸において最も重要な役割を果たしている酵素である。細胞呼吸は栄養物質の持つている化学的エネルギーを生命の維持及び生長に利用され易い ATP のエネルギーに転換する生理現象と要約されるが、栄養物質から脱離する水素（或いは電子）を用いて酸素を水に還元する反応において大部分の ATP はチトクローム系によつて生産されるものである。

奥貫一男君はすでに一九四〇年故柴田桂太博士の研究室において牛の心筋から初めてチトクローム<sub>c<sub>1</sub></sub>成分を発見し、これを精製してその諸性質を明らかにし、チトクローム各成分の電位系列に関する共同研究（六篇）により当時の日本学術協会賞を受けた。その後呼吸酵素の本質並びに酵素相互間の作用機作を明らかにするため、諸酵素の精製標品を用いて呼吸現象の再構成を目標とする研究を進めてきた。一九五〇年頃以後は酵素蛋白質の純化に力を注ぎ、多数のチトクローム系酵素の結晶化に成功し、これらを材料として酵素蛋白質の変性と失活との関係を明らかにする酵素化学的方法を確立した。この方法を用いてチトクローム成分が酸化型と還元型においてその蛋白質部分のトリプシンによる被分解性に明瞭な差のあることを発見した。さらに酸化型と還元型の間には電気泳動速度やイオン交換樹脂に対する親和性にも差異のあること並びに化学的修飾に際しても反応性に差異のあることを証明した。

これらの実験的研究によつてチトクローム<sub>c</sub>が酸化還元に伴つて作用基の電子状態のみでなく蛋白質部分の高次構

造までも可逆的に変化を起こすことが確認されたのである。この発見は酵素化学の分野において極めて重要な意義を有するものである。

多くのチトクローム系は $a_1$ 、 $b_1$ 、 $c$ 及び $c_1$ の四成分から成るものであるが、 $c$ 成分だけが水溶性で比較的容易に抽出精製されるが、他の三成分はコール酸と高濃度の塩類溶液を用いなければ抽出されない。奥貫君らは牛心筋よりこれら四成分をそれぞれ高度に純化し、または結晶として単離し、それら相互間の電子伝達機構を再構成系によつて研究し、多くの新知見を得た。ことにチトクローム $c$ 成分については種々の高等動物および高等植物をはじめとし、パン酵母や緑膿菌のような微生物からも結晶化する方法を確立し、呼吸酵素系全般の研究に貢献したことは極めて大である。これらの広汎な研究成果の中で最も注目すべき業績として挙げられるべきものは、ワールブルクの提唱した「呼吸酵素」或いはカイリンのチトクロームオキシダーゼと呼ばれた細胞呼吸において分子状酸素に直結する酵素活性が単離純化したチトクローム $a$ 及び $c$ 両成分の共存によつて再現出来ることを確認したことである。これによつて長い間世界の生化学者の間に論議の的となつていたチトクロームオキシダーゼの本質を鮮かに解明したことになる。なおチトクローム $a$ は酸性蛋白質であり、チトクローム $c$ は塩基性蛋白質であつて、両成分は分子比一対一の活性分子化合物をつくることも確かめられたが、この場合両成分の相互作用は単なるイオン結合のみでなく $c$ 成分のリジン残基と $a$ 成分のヘムに存在するフォルミル基も重要な役割を有つてることが指摘された。

また、緑膿菌のチトクローム系においては $a$ 成分を欠いている代わりに、チトクローム $a_1$ と $a_2$ を有し、そのチトクロームオキシダーゼはヘム $a_2$ と $c$ 型ヘムを共有しているもので、この複合チトクロームも結晶として単離され、酸素

のみならず亜硝酸イオンをも還元することが明らかにされた。

その他チトクローム系に関する比較生化学的研究も重要な業績である。牛の心筋のチトクローム $a$ と共存してオキシダーゼ作用を発現するものは酵母菌より系統学的に上位にある諸生物のチトクローム $c$ であつて、緑膿菌や藻類などのチトクローム $c$ は作用しない。逆に酵母菌より下位にある諸生物のチトクローム $c$ は、緑膿菌のチトクローム $a_2$ と共転してオキシダーゼ作用を現わすことがたしかめられた。この事実に関連して牛の心筋の $a$ 成分と共転する種々のチトクローム $c$ のアミノ酸結合順序はアミノ末端から数えて七〇番目のアスパラギン酸から八〇番目のメチオニンまで完全に同じであることが注目される。

以上、奥貫一男君の研究は殆どすべての生物にとつて最も重要な酵素群であるチトクローム系に関して画期的な業績を挙げたもので、生化学の進歩とくに細胞呼吸の解明において顕著な貢献をなしたものであつてこれらの業績は国際的にも極めて高く評価されている。

主要な著書及び論文目録

- 1) K. Okunuki: Denaturation and inactivation of enzyme proteins; in "Advances in Enzymology", Interscience Publishers Inc., New York, 23, 29 (1961).
- 2) ———: Cytochrome oxidase; in "Oxygenases" ed. by O. Hayashi, Academic Press, New York and London, p. 409 (1962).
- 3) ———: Cytochromes and Cytochrome Oxidase; in "Comprehensive Biochemistry" ed. by Florkin and E. Stoltz, Elsevier Publ., Co., Amsterdam, 14, 232 (1966).
- 4) ———: Ueber ein neues Enzym Glutamincarboxylase. Bot. Mag. (Tokyo), 51, 270 (1937).

- 5) B. Hagihara, H. Matsubara, M. Nakai, and K. Okunuki: Crystalline bacterial proteinase of *Bacillus subtilis*. *J. Biochem.*, **45**, 185 (1958).
- 6) K. Okunuki, B. Hagihara, H. Matsubara, and T. Nakayama: Denaturation and inactivation of enzyme proteins I. Bacterial proteinase method for the determination of the ratio of denaturation of globular proteins. *J. Biochem.*, **43**, 453 (1956).
- 7) E. Yakushiji and K. Okunuki: Ueber eine neue Cytochromkomponente und ihre Funktion. *Proc. Imp. Acad.*, Tokyo, **16**, 299 (1940).
- 8) ———: Isolierung der  $\alpha$ -Komponente des Cytochromes und ihre Eigenschaften. *Proc. Imp. Acad.*, Tokyo, **17**, 38 (1941).
- 9) K. Okunuki: Untersuchungen über die Substratspezifität der Cytochromoxydase. *Acta Phytochim.*, **12**, 1 (1941).
- 10) K. Okunuki and E. Yakushiji: Ueber die  $\alpha$ -Komponente des Cytochromsystems. *Proc. Japan Acad.*, **24** (10), 12 (1948).
- 11) K. Ohnishi and K. Okunuki: Crystallization of cytochrome *b* from larvae of the housefly, *Musca domestica* L. *Biochim. Biophys. Acta*, **99**, 575 (1965).
- 12) K. Okunuki, B. Hagihara, I. Sekuzu, and T. Horio: Studies on cytochrome system. *Proc. Intern. Sym. Enz. Chem.*, Tokyo and Kyoto 1957, p. 264 (1958), Maruzen, Tokyo.
- 13) K. Okunuki, I. Sekuzu, T. Yonetani, and S. Takemori: Studies on cytochrome *a* I. Extraction, purification and some properties of cytochrome *a*. *J. Biochem.*, **45**, 847 (1958).
- 14) I. Sekuzu, S. Takemori, Y. Orii, and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. IV. Reaction of cytochrome *a* with cytochromes *c* and *c*<sub>1</sub>. *Biochim. Biophys. Acta*, **37**, 64 (1960).

- 15) S. Takemori, I. Sekuzu, and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. VI. Effect of aldehyde reagents on cytochrome *a*. J. Biochem., **47**, 569 (1960).
- 16) S. Takemori, I. Sekuzu, and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. VII. Physico-chemical properties of purified cytochrome *a*. Biochim. Biophys. Acta, **51**, 464 (1961).
- 17) S. Takemori, K. Waka, K. Ando, M. Hosokawa, I. Sekuzu, and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. VIII. Reaction of cytochrome *a* with chemically modified cytochrome *c* and basic proteins. J. Biochem., **52**, 28 (1962).
- 18) Y. Orii and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. IX. Significance of oxygenated cytochrome *a* in the cytochrome oxidase mechanism. J. Biochem., **53**, 489 (1963).
- 19) H. Matsubara, Y. Orii, and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. XII. Amino acid composition of beef heart cytochrome *a*. Biochim. Biophys. Acta, **797**, 61 (1965).
- 20) Y. Orii and K. Okunuki: Studies on cytochrome *a*. XIII. Interpretation of the anomalous spectral behaviors of cytochrome *a*. J. Biochem., **57**, 45 (1965).
- 21) Y. Orii, T. Tsudzuki, and K. Okunuki: XIV. The sulphydryl groups in cytochrome *a*. J. Biochem., **58**, 373 (1965).
- 22) Y. Orii and K. Okunuki: Cytochrome oxidase activity of the Okunuki preparation and its activation by heat-, alkali- and detergent-treatments. J. Biochem., **58**, 561 (1965).
- 23) ———: XVI. Significance of molecular state of cytochrome *a* on its oxidase activity. J. Biochem., **61**, 388 (1967).
- 24) T. Tsudzuki, Y. Orii, and K. Okunuki: XVIII. The state of existence of copper in cytochrome *a* and its contribution to the oxidase activity. J. Biochem., **62**, 37 (1967).

- 25) I. Sekuzu, Y. Oriti, and K. Okunuki: Studies on cytochrome  $a_1$ . I. Isolation, purification and properties of cytochrome  $c_1$  from heart muscle. *J. Biochem.*, **48**, 214 (1960).
- 26) Y. Oriti, I. Sekuzu, and K. Okunuki: Studies on cytochrome  $c_1$ . II. Oxidation mechanism of cytochrome  $c_1$  in the presence of cytochromes  $a$  and  $c$ . *J. Biochem.*, **51**, 204 (1962).
- 27) T. Horio, T. Higashi, M. Sasagawa, K. Kusai, M. Nakai, and K. Okunuki: Preparation of crystalline *Pseudomonas* cytochrome  $c$ -551. *Biochem. J.*, **77**, 194 (1960).
- 28) T. Yamanaka and K. Okunuki: Crystalline *Pseudomonas* cytochrome oxidase. I, II, III. *Biochim. Biophys. Acta*, **67**, 379, 394, 407 (1963).
- 29) —: Reconstitution of *Pseudomonas* cytochrome oxidase from haem  $a_2$  and its protein moiety and some properties of the reconstituted enzyme. *Biochem. Z.*, **338**, 62 (1963).
- 30) T. Yamanaka, A. Ota, and K. Okunuki: Oxidative phosphorylation coupled with nitrate respiration. I. Evidence for phosphorylation coupled with nitrate reduction in a cell-free extract of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biochem.*, **51**, 253 (1962).
- 31) B. Hagihara, I. Morikawa, I. Sekuzu, and K. Okunuki: Crystalline cytochrome  $c$ . I. Crystallization of mammalian heart cytochrome  $c$ . *J. Biochem.*, **45**, 551 (1958).
- 32) M. Nozaki, T. Yamanaka, T. Horio, and K. Okunuki: Studies on cytochrome  $c$  I. Purification procedures and proteinase digestion of baker's yeast cytochrome  $c$ . *J. Biochem.*, **44**, 453 (1957).
- 33) K. Ando, H. Matsubara, and K. Okunuki: Alkylation of cytochrome  $c$ . I. Properties of alkylated beef cytochrome  $c$ . II. Carboxymethylation of beef and human cytochromes  $c$  in the oxidized and reduced forms. *Biochim. Biophys. Acta*, **118**, 240, 256 (1966).
- 34) T. Yamanaka and K. Okunuki: Comparative biochemistry of cytochrome  $c$ . *J. Biol. Chem.*, **239**, 1813 (1964).