

Title	Folding of the Immunoglobulin Light Chain : The Mechanism of Unfolding and Refolding, the Role of the Intrachain Disulfide Bond, and the Mechanism of the Disulfide Bond Formation
Author(s)	Goto, Yuji
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/24590
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	ご とう ゆう じ 後 藤 祐 児
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 5 8 6 号
学位授与の日付	昭和 57 年 3 月 25 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	免疫グロブリンL鎖の構造形成
論文審査委員	(主査) 教授 浜口 浩三 教授 京極 好正 教授 池中 徳治

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白質は一次構造によって規定される機能的な高次構造をとる。これがどのような機構により形成されるのかという問題は、蛋白質の構造と機能を理解するうえで大変重要である。本研究では、免疫グロブリン L 鎖、および L 鎖より単離した C_L フラグメント(C_L)を用いて、鎖内ジスルフィド (S-S) 結合に注目して、構造形成の機構を調べた。

免疫グロブリンの特徴はドメインを単位とした構造であり、ドメインは、2層の β -シートの間鎖内S-S結合の1本かかった immunoglobulin-fold とよばれる構造をとる。 C_L はドメイン1個に相当する蛋白質である。まず intact C_L とS-S結合を還元した C_L (還元 C_L)の構造と安定性を比較することにより、鎖内S-S結合の役割を平衡論的に調べた。そして、S-S結合の還元により安定性は大きく減少するが、immunoglobulin-foldの維持にはS-S結合は必ずしも必要でないことを示した。次にS-S結合還元に伴う安定性の減少を詳細に理解し、構造形成におけるS-S結合の役割を明らかにするために、intact C_L と還元 C_L の両者について夫々変性・再生の速度論的実験を行ない、その機構を比較した。そして、intact C_L の再生速度は還元 C_L の場合に比べ著しく速いが、変性速度は両者ともほとんどかわらないことを示した。以上の平衡論的および速度論的研究の結果、S-S結合は構造形成の速度だけを速めるという役割をはたし、これはS-S結合形成に伴う変性状態のエントロピーの減少により説明できることが明らかとなった。

蛋白質の分子内部に埋もれた鎖内S-S結合を還元しても構造が崩れず、SH基が分子内部に埋もれた状態のまま存在するという例は C_L が初めてである。一方、複数のS-S結合をもつ他の蛋白質において、S-S結合形成の途中で、このような埋もれたSH基が生じることは十分考えられる。この点から

還元 C_L にS-S結合が再形成される過程は興味深い。そこでグルタチオンと還元 C_L のSH基のS-S交換反応により、還元 C_L にS-S結合が再形成される過程を詳細に調べた。そして、SH基が分子内部に埋もれた状態ではS-S結合を形成することはできず、一旦、蛋白質が変性してSH基が溶媒に露出する必要のあることを示した。またSH基が溶媒に露出した状態で近接することは、S-S結合の形成を促進することを示した。

次に複雑なドメイン構造をもつ蛋白のモデルとして、 V_L と C_L の2つのドメインからなる免疫グロブリンL鎖全体の構造形成を調べた。そして、L鎖全体の再生反応はL鎖を構成する2つのドメインの独立な構造形成により説明できることを示し、複雑な蛋白質の構造形はドメインを単位としておこなうことを示唆した。

論文の審査結果の要旨

免疫グロブリンのL鎖から単離した C_L フラグメントは鎖内S-S結合を1本だけもつ。後藤君はこのことに着目し、 C_L フラグメントの安定性、構造形成におけるS-S結合の役割を明らかにしようとした。まず、このS-S結合を還元した C_L （還元 C_L ）ともとの C_L の構造と安定性を平衡論的に調べ、S-S結合の還元により安定性は大きく減少するが、蛋白構造の維持には必ずしも必要でないことを示した。次に、この安定性の減少を理解するため、還元 C_L ともとの C_L について変性再生の速度論的研究を詳細に行なった。その結果、S-S結合は変性蛋白からもとの蛋白への再生速度だけを速める働きをしていることを明らかにした。そして、このようなS-S結合の働きは、S-S結合の形成に伴う変性状態でのエントロピーの減少で説明できることを明らかにした。最後に、グルタチオンの存在下で還元 C_L からのS-S結合の形成機構を明らかにした。還元 C_L の2個のSH基は分子内部に埋もれているため、S-S結合を形成するためには、還元 C_L 分子が変性してSH基が溶媒側に露出しなければならないことを示した。

このように、後藤君の研究はただ1本のS-S結合しかもたない C_L フラグメントを用いて変性再生の平衡論的、速度論的研究を行ない、蛋白構造におけるS-S結合の役割を明らかにしたものであり、理学博士の学位論文として十分価値あると認める。