OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24590
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【6】

氏名・(本籍)	後藤祐児
学位の種類	理学博士
学位記番号	第5586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-シートの間に鎖内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ることを示唆した。

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結合の還元により定定性は大きく減少するが，蛋白構造の維持には必ら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ら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給合の働らきは，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。