

Title	Assessment Study on the Application of the Low-angle Laser Light Scattering Technique to the Characterization of Membrane Proteins Solubilized by Surfactants
Author(s)	Maezawa, Shigenori
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/27768">http://hdl.handle.net/11094/27768</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## 【7】

氏名・(本籍)	まえ 前	ざわ 澤	しげ 重	のり 禮
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	6598	号	
学位授与の日付	昭和59年9月25日			
学位授与の要件	理学研究科 高分子学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	界面活性剤により可溶化された生体膜蛋白質のキャラクタリゼーションへの低角レーザー光散乱法の適用についての評価研究			
論文審査委員	(主査) 教授 高木 俊夫 (副査) 教授 小高 忠男 教授 濱口 浩三			

## 論文内容の要旨

生体膜蛋白質の諸性質を明らかにすることは生命現象の理解において極めて重要である。生体膜蛋白質の大部分は水に難溶であり、一般に界面活性剤によって可溶化される。生体膜蛋白質の多く(特に物質の認識、移送に関するもの)は幾つかのサブユニットから構成されている。このような集合状態は界面活性剤による可溶化状態下でも維持されている場合が多いと考えられている。従って、可溶化状態にある膜蛋白質の正確な分子量測定と分子集合体の解析は生体膜中での存在状態の推定や機能の解明に極めて重要である。

一般に、測定に使用できる試料量には限りがあるため、上記目的の達成には、正確、簡便、迅速性に加え微量の試料で測定可能な手段を確立することが必要である。我々は、そのような手段として高性能ゲルクロマトグラフィーと低角レーザー光散乱法を組み合わせた方法が有効であることを見出し、この手法の整備、開発に努力してきた。

通常、変性を伴わずに生体膜蛋白質を可溶化するには非イオン性界面活性剤が使用されている。我々は非イオン性界面活性剤存在下の高性能ゲルクロマトグラフィー・低角レーザー光散乱法を確立し、大腸菌外膜に存在する膜蛋白質、porin及び $\lambda$ -receptor proteinが三量体として可溶化されていることを確認すると共にこの方式の有効性を実証した。また、これまで測定が厄介であった比屈折率増分の簡便測定法を工夫し、測定の迅速化と試料の微量化に成功した<sup>1)</sup>。そして、非常に複雑な可溶化状態を示すイヌ腎( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ )-ATPaseにこの方式を適用し、この酵素が主に $\alpha\beta$ -プロトマー及びその二量体( $\alpha_2\beta_2$ )として可溶化されることを見出した。更に、複雑な溶出曲線をコンピューターを用いて解析し、会合状態の経時変化の追跡を可能にした。<sup>2)</sup> 一方、生化学の分野で広く使用されているSDS-ポリアクリ

ルアミドゲル電気泳動法では正確な分子量測定が不可能な糖蛋白質についても、本方式によって正確な分子量測定が可能になることが実証された。<sup>3)</sup> また、強力な変性剤であり膜蛋白質を構成サブユニットに解裂させるSDS存在下の本方式を定式化させた。これを前述の非イオン性界面活性剤存在下での測定と併用することで解裂状態と集合状態の双方における厳密な分子量測定が可能になり、容易に生体膜蛋白質のサブユニット組成が明らかになることが実証された。

(文 献)

- 1) Biochim. Biophys. Acta, 747, 291(1983)
- 2) Biochim. Biophys. Acta, 748, 153(1983)
- 3) J. Chromatogr., 280, 124(1983)

### 論 文 の 審 査 結 果 の 要 旨

生体膜蛋白質は温和な界面活性剤を使用すると、膜中の分子構成を維持して可溶化され、変性作用を持つ界面活性剤を使用すると、開裂されて構成単位であるポリペプチド鎖に分離する。前澤君は水系高性能ゲルクロマトグラフと低角レーザー光散乱計を中心とする測定システムを整備して、これら両状態における可溶化生体膜蛋白質の各成分の分子量を迅速、簡便そして精密に決定する手法の定式化に成功した。同君は、同システムを活用して、イヌ腎 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) -ATPase および大腸菌外膜蛋白質であるポーリンと $\lambda$ -セプターについて、頭書の二条件下での測定を精密に実施し、それらの主要成分が前者については $\alpha_2\beta_2$ と $\alpha\beta$ 、後の二者についてはいずれも $\alpha_3$ タイプであることを明らかにした。以上の研究は、生体膜を理解するために極めて有用かつ他の方法では得難い知見を得る道を開いたものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。