

Title	卵白アルブミンの部分分解の研究
Author(s)	春名, 一郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28193
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 18 】

氏名・(本籍)	春 名 一 郎 はる な いち ろう
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2 4 号
学位授与の日付	昭 和 34 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	卵 白 ア ル ブ ミ ン の 部 分 分 解 の 研 究
論文審査委員	(主 査) (副 査) 教 授 赤 堀 四 郎 教 授 奥 貫 一 男 教 授 二 国 二 郎 教 授 伊 勢 村 寿 三

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白質の有機化学的構造の研究は興味深く且つ重要な問題と思われる。卵白アルブミンは古くから結晶化され、且つ多量に得られる蛋白質であるが、その有機化学的構造の研究についてはあまり報告されていない。この論文では卵白アルブミンを素材とし、その化学構造を検討し、その結果得られた結果を報告する。

1. 卵白アルブミンの部分ヒドラジン分解

赤堀らは先に蛋白質カルボキシル末端基の決定法としてヒドラジン分解法を提出したが、この方法を卵白アルブミンに適用し、カルボキシル末端ペプチドと酸性アミノ酸含有ペプチドの構造決定を試みた。卵白アルブミンを部分ヒドラジン分解した後、DNP化し、DNP-誘導体としてから、カルボキシル末端ペプチドと酸性アミノ酸含有ペプチドを他のペプチドから抽出により分別した。得られたペプチドは、向流分配法によって粗分離した後、カラムクロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィーを用いて分離精製した。

その結果、1ケのカルボキシル末端ペプチドと35ケの酸性アミノ酸含有ペプチドを単離することができた。得られたペプチドの中でアミノ酸の結合順序の推定されるものは次のようなものである。

カルボキシル末端ペプチド：Val-Ser-Pro

酸性アミノ酸含有ペプチド：Asp-Phe, Asp-Ser, Ser-Glu, Glu-Ala, Asp-Ala, Asp-Phe-Phe。

他の28ケのペプチドもアミノ末端アミノ酸とアミノ酸組成について分析を行った。その結果、現在までに得られた35ケのペプチドの中28ケのペプチドが、アミノ末端アミノ酸として酸性アミノ酸を含有していることがわかり、蛋白質のヒドラジン分解の際、ペプチド鎖の酸性アミノ酸の前で分解されやすいのではないかという事が推定される。

以上の結果から、ヒドラジン分解法はカルボキシル末端基の決定法であるが、この方法を適用することによってカルボキシル末端ペプチド以外に酸性アミノ酸の含有ペプチドも構造決定することができること

を確認した。

2. 細菌プロテイナーゼによる未変性卵白アルブミンの変化

卵白アルブミンが Subtilisin によって板状結晶である Plakalbumin になることは Ottesen らによってすでに報告されている。ここでは卵白アルブミンの有機化学的構造の解明の一端として Subtilisin のかわりに *Bacillus subtilis*, N' から得られたプロテイナーゼ (BPN') を用いて未変性卵白アルブミンの変化について研究を試みた。

未変性卵白アルブミンに 20°C, pH 6.3 で BPN' を 3 時間作用させると板状でない棒状の結晶を得た。そしてこの際、10%TCA 可溶部分に蛋白 1 モル当たり 20 モルに相当するアミノ酸を含みアミノ酸組成は、Glu, Asp₂, Gly₂, Ser₂, Ala₄, Thr₁, Phe₁, Val₃, Leu or Ileu₃, Lys₁ であるペプチドが遊離する。

しかし卵白アルブミン中の糖の遊離は認められない。新しく生成される蛋白質の N- 末端アミノ酸は、DNP 法により Thr 1 モル (蛋白質の分子量を 43,000 として) C- 末端アミノ酸は、ヒドラジン分解法とカルボキシペプチダーゼ法により Pro 1 モル, Val 1 モルであることが推定された。

これらの結果より、卵白アルブミンは C- 末端基に Val-Ser-Pro をもった“6”字型の構造をしており、BPN' の作用によって環状構造が分解し、N- 末端アミノ酸として Thr, C- 末端アミノ酸として Val, Pro をもった新しい蛋白質に変化すると考えられる。

論文の審査結果の要旨

春名一郎君の論文は卵アルブミンに関するもので 2 編より成っている。

第 1 編は卵アルブミンの無水ヒドラジンによる部分分解で生ずる酸性ペプチドの研究、第 2 編は細菌のプロテイナーゼ (BPN') による未変性卵アルブミンの部分分解に関するものである。

結晶卵アルブミンを無水ヒドラジンと共に 100° に 3 時間熱して部分的ヒドラジノリシスを行はしめ、過剰のヒドラジンを除去した後、ジニトロフルオールベンゼンを用いてジニトロフェニル化し、反応生成物より酸性のジニトロフェニルペプチドのみを抽出した。ここに得られた酸性ペプチド誘導体を向流分画法によって分画した後、各分画を更にクロマトグラフィーによって分別し、35 種にのぼる酸性ジニトロフェニルペプチドを夫々略々純粋な形に分離することが出来た。これらのペプチド類の中 7 種は夫々次の如きジ-及びトリペプチドであることがアミノ酸分析及び末端基決定によってたしかめられた。

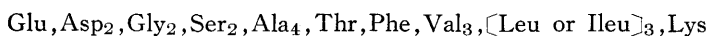
- 1) Valyl-Seryl-Proline
- 2) Aspartyl-Phenylalanine
- 3) Aspartyl-Serine
- 4) Seryl-glutamic Acid
- 5) Glutamyl-aspartic Acid
- 6) Aspartyl-Alanine
- 7) Aspartyl-Phenylalanyl-Phenylalanine

卵アルブミンはプロリンをカルボキシ末端に有することが知られているので、1) のトリペプチドはカルボキシ末端に由来するものと考えられる。残りの 28 種のペプチドについては夫々アミノ末端基並びにア

ミノ酸組成が分析されたが、35種の中28種が酸性アミノ酸をアミノ末端に有するものであった。これら結果よりヒドラジンによってはペプチド連鎖の中で酸性アミノ酸のアミノ基側のペプチド結合が最も速かに分解を受けることが明らかにされたものでこのことは今後の蛋白質の化学構造研究に大いに役立つものである。

次に未変性の卵アルブミンに pH 6.3, 20°C で細菌プロテイナーゼ (BPN') を3時間作用せしめることによって一種の新しい結晶性蛋白質を得た。

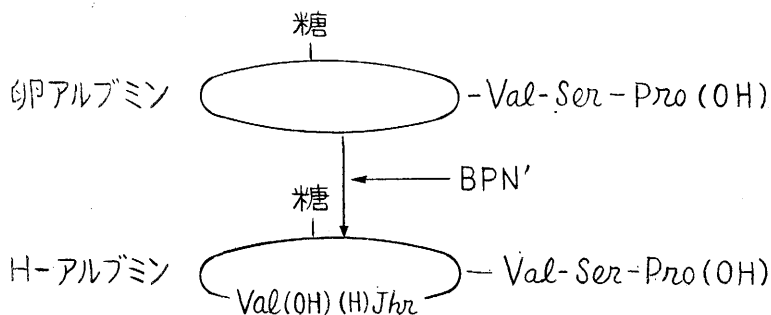
この蛋白質は、かつて Linderstrøm-Lang 及び Ottesen 等によって得られたブラクアルブミンとは種々の性質において異っているので、これを仮りにH-アルブミンと命名した。卵アルブミンよりH-アルブミンの生成に際しては20残基のアミノ酸が3種のポリペプチドとして遊離するが、その全組成は



であってプロリンを含んでいないので、カルボキシル末端に由来するものでないことは明かである。また元の卵アルブミンは糖の原子団を有するが、これはペプチド中には発見されず、H-アルブミン中に保存されていることが知られた。

元の卵アルブミンはアミノ末端基を有しないがH-アルブミンは1個のスレオニン残基をアミノ末端に有することがジニトロフェニル法によってたしかめられ、カルボキシル末端基についてはヒドラジン分解法及びカルボキシペプチダーゼ法によって研究した結果、H-アルブミンにはプロリンのほかバリンの存在することが略々確実となった。

以上の結果を総合して未変性卵アルブミンの細菌プロテイナーゼ BPN' による変化は次の様な模式によって示されるものとした。



以上春名君の研究は蛋白質化学上の極めて困難な問題について純化学的並びに酵素化学的の両方面より根気強い研究を行い、卵アルブミンの構造及び生化学的性質に関する重要な知見を加えたものである。故に春名君は理学博士の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認める。