

Title	タカアミラーゼAの尿素変性
Author(s)	池田, 静枝
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28250
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 25 】

氏名・(本籍)	池田静枝 いけだしずえ
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 7 3 号
学位授与の日付	昭和 35 年 2 月 9 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	タカアミラーゼ A の尿素変性
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 伊勢村寿三 教授 赤堀 四郎 教授 奥貫 一男 教授 二国 二郎

論 文 内 容 の 要 旨

タカアミラーゼ A の構造の特性を明かにする目的で、尿素変性の研究を主として粘度、沈降、拡散の測定により行った。まず、粘度の測定によって、変性速度や程度に及ぼすカルシウムの結合量(透析条件)及び pH の影響を調べた。透析で除き得るカルシウムも、その分子内結合によって蛋白分子の三次ないし二次構造を安定化して変性を阻害することがわかった。変性が定常状態に達する実験条件で、尿素濃度や温度の影響を調べ、変性速度の蛋白濃度に関する次数、定常状態の温度依存性並びに反応の可逆性を統一的に説明するために、一つの変性機構を提出し、この蛋白分子の安定性について論じた。また変性の定常状態において沈降と拡散の測定を行い、分子の解離会合は生じていないが、その有効体積が変性前に比べて約十倍の膨張している事を確めた。

論 文 の 審 査 結 果 の 要 旨

池田君はさきにタカアミラーゼ A について沈降、拡散、粘度、偏比容などの測定を行い、その分子量や分子形を算出し、その分子が比較的剛いものであることを結論したが、この結論はこの蛋白が界面活性剤のごとき強力な変性剤に対して相当安定であることによっても支持されている。そこでこのような安定性がタカアミラーゼのどのような性質にもとづくかを分子形体を保っている分子内結合を破壊することによってしらべようとし、タカアミラーゼ A の尿素変性を詳細に研究した。

醋酸カルシウムを含むアセトン水溶液から結晶化されたタカアミラーゼ A は蛋白分子 1 個の中に 10 原子のカルシウムを含んでいるが、そのうち 1 原子のカルシウムが活性構造を保つために必須であることがわかっていて。そこで第 1 編においては種々の条件で透析した、すなわちカルシウム原子の含有量のことなる蛋白の尿素変性を変性にともなう粘度の増加をしらべることによって検討した結果、10 原子のカルシウムを含む場合には尿素変性はおこらないが、1 原子にまで減少せしめたときはもちろん 1~10 原子の範囲においても変性がおこるようになることを明らかにした。それゆえカルシウムは蛋白分子の二次または三

次造を安定化し尿素による unfolding を妨げる役割をしている。またタカアミラーゼ結晶中にタカプロテアーゼが微量伴われるが、尿素変性をおこしたタカアミラーゼのプロテアーゼによる分解もカルシウムによって阻止せられることを示した。尿素による粘度の増加が変性の程度に比例するとして変性の経時的変化を詳細にしらべ、第2編においてはこれに速度論的考察をした。pH5における変性実験で増加した粘度が定常値に達するが、変性の最終状態におよぼす尿素や温度の影響をしらべた結果、変性の定常状態の粘度値は変性をさせた温度には関係せずに、粘度の測定を行った温度に依存すること、ある一定の尿素濃度から上では、蛋白濃度についての一次反応からはずれることを明かにした。これらの結果を勘案して、それらの実験的事実に適合する次のような反応の scheme を提出した。

未変性蛋白(N)→変性蛋白(D)⇌変性蛋白(I)

この反応式によって計算した粘度-時間曲線は実測のそれとよく一致することを示した。第3編においては尿素で変性したタカアミラーゼAの分子の大きさや形をしらべるために、粘度の定常値に達した溶液について沈降、拡散の測定を行った。その結果、形状因子 β も未変性のものとほとんど変わらず、拡散の測定は若干の多分散性を示したが、分子量の値も未変性のそれとほとんど変化しないことから分子の解離、会合の起っていないことがわかった。それ故、尿素変性による粘度などの変化は流体力学的な有効体積の増加によるものであることを示唆した。

以上、池田君の研究はさきに発表された未変性のタカアミラーゼの分子形体に関する研究とともに、タカアミラーゼ分子の形体とその二次または三次構造の保持に対するカルシウム原子の役割を明らかにするとともに、その変性機構を明かにし蛋白質溶液の物理化学に寄与したので、理学博士の学位を受けるに十分の資格があるものと認める。