The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	タカアミラーゼAの尿素変性
Author(s)	池田, 静枝
Citation	大阪大学, 1960, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28250
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【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**
論文審査委員	(主　査) 教　授　伊勢村寿三 (副　査) 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脹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ず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る。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。