

Title	タカアミラーゼAの変性及びその可逆性に関する研究 I 酸変性及び中和による復元
Author(s)	高木, 俊夫
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28353
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	高木俊夫
	<small>たか き とし お</small>
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 256 号
学位授与の日付	昭和 37 年 2 月 7 日
学位授与の要件	理学研究科 無機及び物理化学専攻 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 の変性及びその可逆性に関する研究 I 酸変性及び中和による復元
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 伊勢村寿三 教授 佐多 直康 教授 広田 鋼藏 教授 角戸 正夫

論文内容の要旨

これまで行なってきた一連の研究(参考論文 1, 3 および 4 参照)においてタカアミラーゼ A はかなり強固な分子構造を有することを知るとともに、それを安定化している分子内結合が存在することを推定した。一方タカアミラーゼ A の酸変性は可逆的であることが従来知られており、著者もこの点を追試し確認した。

先に行なった研究(参考論文 4 参照)の結果は、酸変性に際してタカアミラーゼ A の分子内結合の内の少くともある種のもは完全に切断されることを示唆している。そこでこれらの分子内結合は蛋白分子の立体構造の決定因子であり得ず、単に分子の立体構造の安定化に寄与していることが推定された。著者はこの点を明確にするとともにタカアミラーゼ A の酸変性にとまなう分子構造の破かいの程度、およびその破かいの可逆性の実体を明らかにするため本研究を行なった。この研究はその後タカアミラーゼ A の分子構造のさらに高度な破かいの可逆性の検討に進展し、タカアミラーゼ A 分子の立体構造が一次構造(アミノ酸残基の配列様式)により規定されることを示唆する興味ある結果を得るに至った(参考論文 5 (予報)参照)。

本研究の概要

- (1) pH2 附近におけるタカアミラーゼ A の酸変性および中和によるその回復を酵素活性および旋光度の測定により追跡した。
- (2) 酸変性タカアミラーゼ A および renatured タカアミラーゼ A について酵素活性、クロマトグラフ的挙動、旋光性、粘度、滴定曲線、および超遠沈における挙動といった諸性質を測定し検討を加えた。
- (3) 酸変性したタカアミラーゼ A 分子のうち大部分のものが、好適な条件下においては、中和により元の構造にもどることが判明した。中和したタカアミラーゼ溶液より元通りの諸性質を示す結晶性タカアミラーゼ A が得られた。回復の至適 pH は 5.5 乃至 9.5 であった。イオン強度の増大は回復に不利であった。
- (4) 酸変性におけるタカアミラーゼ A の分子構造の破かいは限定的なもので尿素変性においてはさらに高度な破かいが見られる。この酸変性タカアミラーゼ A 分子は pH 2 附近では安定で、それ以上の変化は

長時間放置しても起らない。酸変性タカアミラーゼA分子中には native タカアミラーゼA分子中に存在したヘリックス構造の大部分が残存していることが示唆された。

(5) タカアミラーゼAは pH 2以下よりむしろ pH 3 附近で不安定で、不可逆的失活が見られる。これは至適pHが3 附近のproteaseが不純物として混入しているためと推定される。

論文の審査結果の要旨

著者は蛋白質の立体構造が分子内結合によって強制的に保たれているものか、熱力学的に安定なものであるかを知る目的で蛋白質の変性とその可逆性について研究した。蛋白質としてタカアミラーゼAを用いて、その酸変性、尿素変性、および還元的（チオグリコール酸リダーによる）尿素変性について物理化学的に研究し、変性にともなう立体構造の変化とその程度について検討した。

主論文はその酸変性に関するものであって構造変化は主として旋光度、旋光分散、粘度、起遠心沈降などによってしらべた。その結果、酸変性（pH 2.1 とする）では、その分子は尿素変性や還元的尿素変性の場合に比べて限定的な破壊をうけるにすぎないことを明らかにした。酸変性をうけた蛋白は会合によって多分散的であるにもかかわらず、これを中和したものは単分散的になり、pH 5.5以上9.5までの領域では（pH7.2が最適）比較的容易に逐次未変性蛋白の立体構造を回復することを見い出した。のみならずデキストリン化力を測定すると酵素の活性も回復する。酸変性蛋白を中和した液をDEAEセルロースのクロマトグラムにかけてタカアミラーゼ活性区分をとり出すと完全に元の状態に復していることがわかった。

蛋白質の二次構造や三次構造の破壊の一層はげしい尿素変性や還元的尿素変性と其の可逆性についても検討した。これは参加論文として提出せられているが、これらによる立体構造の破壊も可逆的であってよい収率で未変性のタカアミラーゼAとの間に有意の差を認め得ない再生タカアミラーゼAを結晶の状態にとり出すことが出来た。これらの知見はある特定のアミノ酸残基の結合順序すなわち一次構造が蛋白質固有の三次元的構造を決定するといういわゆる "sequence hypothesis" を支持するものとして其の意義は大きい。

この他、高木君にはタカアミラーゼの界面活性剤との相互作用やタカアミラーゼの隠蔽されたフェノール性水酸基やカルボキシル基に関する研究があり、いずれも蛋白質物理化学の立場から優れた研究である。よってこの論文は理学博士の論文として十分の価値あるものと認める。