

Title	タカアミラーゼA中のシスチン架橋の段階的還元 II. 段階的還元に対する化学的証明
Author(s)	宣, 炳国
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28851
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 7 】

氏名・(本籍)	宣 炳 国 せん べい こく
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 8 6 2 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 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中のシスチン架橋の段階的還元 Ⅱ. 段階的還元に対する化学的証明
論文審査委員	(主査) 教 授 成 田 耕 造
	(副査) 教 授 伊 勢 村 寿 三 教 授 次 田 皓

論 文 内 容 の 要 旨

筆者は α -amylase の 1 種であるタカアミラーゼAが分子量 52,000 当り 4 ケのシスチン架橋と、1 ケのシスチン残基を含有していて、この後者のシスチン残基が intact なアミラーゼ分子中ではマスクされた状態で存在していることを前に報告した。

さらに、既報のごとく、上述のシスチン架橋の段階的還元に、現象論的に成功した、すなわち温和な条件のもとで、シスチン架橋を NaBH_4 を用いて還元的に切断し、その結果生じたシスチン残基を、電流滴定法で定量していくと、還元反応の進行にともない、最初 2 モルのシスチン残基が滴定され、しばらく滴定値の増加が認められない。その後 1 モルの増加 (合計 3 モル) が認められ、またしばらく増加が停止する。

次に、2 モル (合計 5 モル) が滴定され、また、しばらく増加が停止した後に、次の増加が始まる。

以上の結果から、最初と 3 番目の段階に現われる各 2 モルのシスチン残基は、4 ケのシスチン架橋中のおのおの特定の 1 ケのシスチン架橋の選択的還元によるものと結論された。2 番目の段階に現われる 1 ケのシスチン残基は、1 番目の段階で 1 ケのシスチン架橋が切断された後、誘因されたアミラーゼ分子の構造の変化の結果、外部に露出された、intact なアミラーゼ分子中では、マスクされた状態にあった、シスチン残基に由来するものと結論された。さらに、筆者は、上述の結論を化学的に証明するため、第 1 段と第 2 段目に現われるシスチン残基について、次のような実験を行った。段階的に現われるシスチン残基を、放射性のヨード酢酸で labeling を行ない、この放射性アミラーゼ誘導体をペプシンで消化した。このペプシン消化物を、過ギ酸で酸化し、この結果得られたアミラーゼ誘導体を用いて、ラディオオートグラムを調製した。一方、アミラーゼ分子中に、マスクされた状態で存在しているシスチン残基を変性剤を用いて露出させた後、上と同様な処理を行な

った。これらのラディオオートグラムから、主な放射性ペプチドを分離精製し、それらの構成アミノ酸を定量分析した。この化学的証明のための実験結果から既述の現象に対する解釈が正しかったと結論される結果を得た。

このような実験は、酵素の実体を理解するために重要なみならず、一般高分子化合物を理解するにも役立つものと思われる。

論文の審査結果の要旨

宣炳国君はタカアミラーゼAを NaBH_4 で還元する際に、S S結合が還元されて生ずるS H基を時間的に追跡すると、整数個のS H基が順次定量されることをすでに観察していた。すなわちまず最も還元され易いS S結合が還元されて2個のS H基が定量され、つづいてマスクされていたS H基が定量され、さらに第2のS S結合が還元されるという風に、段階的に還元が進行するという極めて興味ある事実を見出した。この段階的反応は極めて明確に示された最初のものであり、この反応は還元温度、アミラーゼ分子の僅かの conformation の変化、また還元剤の純度に極めて鋭敏であることを、数多くの実験結果に基づいて明確に示した。

上述の段階的反応性はS H基の分析結果のみに基づいたいわば現象の観察に過ぎない。そこでこの現象を化学的に実証するために、第1段階での還元で生じた2個のS H基を C^{14} 含有ヨード酢酸でカルボキシメチル化後ペプシンで消化し、1個のS S結合の還元によって生じたと考えられる放射性ペプチドを分離精製しこれらペプチドのアミノ酸分析を行なって、上述の段階的還元反応は見掛け上のものではなく、真に蛋白質分子内で生じていることを化学的に証明した。同様の証明を3個のS H基が定量できる段階の反応物についても示した。

上述の宣君の研究は蛋白質での段階的反応性を化学的な根拠によって確認した極めて興味あるものであり、理学博士の学位論文として価値あるものと認める。