



Title	タカアミラーゼAに対するブロムシアンの作用
Author(s)	大軒, 子郎
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29101
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

【 4 】

氏名・(本籍)	大 軒 子 郎 おお のき し ろう
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 1 1 9 号
学位授与の日付	昭 和 42 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 に対するブロムシアン ^(主査) の作用
論文審査委員	教授 成田 耕造 (副査) 教授 鈴木 友二 教授 次田 皓

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白質の一次構造決定の際、最も望ましいのは比較的含量の少ないアミノ酸残基に着目し、その特定のペプチド結合のみを選択的に切断して得られるペプチド断片を分析することである。著者はこのような観点から、分子量51,000のタカアミラーゼ A (TAA) の一次構造決定の一手段としてブロムシアン (BrCN) 分解を行ない、生成物の分離、精製並びに若干のペプチドの構造決定を行なった。

この研究を行なうに当り先ず第一に BrCN 分解の条件の検討を詳細に行ない、その結果、TAAの場合、メチオニル結合をできるだけ定量的に切断し且つ非特異的開裂を最小限にとどめる最適条件は、1% R-CM-TAA, 0.5% BrCN, 0.3 NHCl+8M 尿素 (pH 2.0), 5時間, 38°Cであることを明らかにした。この条件下で約90%のメチオニル結合の切断が認められた。

次に、この BrCN 分解物は Sephadex G-25 および G-75により、I-I, I-II, I-III, I-IVおよび II-D の五箇の分画に分別し、さらにこれらのうち II-D, および I-IVについては Dowex50 を用い、また I-IIIの可溶性区分については Dowex 1 を用いて精製を行なった。このようにして得られたほとんどすべてのペプチドはペーパークロマトおよび電気泳動的に単一であった。

これらのペプチドのアミノ酸分析、N末端分析並びに若干のペプチドの構造決定を行ない、BrCN 分解によって期待される九箇の断片のうち五箇、アミノ酸残基にして約70箇分を明らかにし、そのうちの一つは TAA の C 末端に由来するペプチドであることが推定された。

BrCN 分解後のペプチドは重量にして約80%が水に不溶性であるが、IN 酢酸で可溶化することにより不溶性ポリペプチドの分画にも或る程度成功し、I-I, I-II, I-III-P にそれぞれ二箇の主断片を含むことが予想された。

論文の審査結果の要旨

大軒君の論文“The Action of Cyanogen Bromide on Taka-Amylase A”は4編からなっている。BrCNはタンパク質中のメチオニル結合を選択的に切断する試薬であることが、Gross, Witkop によって見出され、タンパク質の構造研究にしばしば利用されている。成田研究室では、数年来タカアミラーゼの化学構造の解明を行なっているが、分子量51,000のタンパク質の構造を決定することは容易なことではない。大軒君はこの研究の一環として、還元後カルボキシメチル化したアミラーゼに BrCN を作用させ、メチオニル結合を切断して得られるペプチドの構造決定をくわだてた。

まずアミラーゼ誘導体に BrCN を作用させ、できるだけ定量的に、しかも副反応をおさえてメチオニル結合を切断する条件を詳細に検討し、最適条件下で行なった反応物から、それぞれのペプチドを分離することを試みた。しかし不幸にして反応物の約90%は水に不溶であったので、その分別に苦労した。しかしN酢酸に反応物が溶解することを見出し、この条件下で Sephadex G-25 および G-50 を用いたゲル濾過を行なって5区分に分別し、比較的低分子量ペプチド区分は、さらにイオン交換クロマトグラフィーで精製を行ない、14種のペプチドを分離した。これらの中には副反応による産物も含まれていたため、主成分ペプチドについて構造研究を行ない、次のような構造あるいは部分構造を推定した。

H•Asp•Asp•Leu•Tyr•AspNH₂•Homoser•OH

H•Tyr•Leu•Homoser•OH

H•Val•[His, Asp, Asp], Homoser•OH

H•[Lys, Asp₂, Thr, Ser₂₋₃, Pro₂, Ala, Val, Ileu, Leu, Tyr₂₋₃, Phe]•Homoser•OH

H•Ala•[Lys₂, Arg, CMCys, Thr, Ser₄, Glu, Pro₂, Gly₃, Ala, Val]•OH

最後者のペプチドはもとのアミラーゼのC末端から由来したものと推定している。さらに比較的高分子量ペプチド区分には、N末端基に、グリシン、アルギニン、イソロイシンおよびアラニンを含みC末端基がホモセリンであるペプチドが含有されていることを明らかにした。

以上の大軒君の研究は、種々な困難を克服した成果であり、タカアミラーゼの構造研究に貢献するところ極めて大である。よって理学博士の学位論文として、十分価値あるものと認めた。