

Title	ポリペプチド単分子膜の研究
Author(s)	鈴木, 旭
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29608
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	鈴木旭 すずき あさひ
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1356 号
学位授与の日付	昭和 43 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
学位論文名	ポリペプチド単分子膜の研究
論文審査委員	(主査) 教授 伊勢村寿三 (副査) 教授 成田 耕造 教授 奥貫 一男

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白質の界面における物性についての知見を得るために、数種の合成ポリペプチドを合成し、それらの単分子膜的挙動を調べた。また細菌細胞壁から抽出された生体高分子の水面上に展開された膜の単分子膜的性質を調べた。本論文は以下の六部から成っている。

1) 自記式単分子膜測定装置の製作

単分子膜の物性は、今まで手動操作によって測定されて来たが、同一の実験条件の再現はむずかしく、個人誤差の入りやすいものであった。再現性の良い、規定された実験条件の下でデータを取得するために、ほとんどの操作を自動化し、表面圧、表面電位、表面粘度など測定量を自記記録させる装置を製作した。蛋白質等高分子物質では、膜の展開速度や、圧縮速度により、非平衡状態で測定する危険があるが、製作した装置ではこれらの速度を自動的に制御することが出来る。表面粘度計は、回転円板型として非ニュートン性表面粘度を、与えた shear rate に対して測定することが出来るようにした。

2) ポリステイン誘導体の単分子膜

表面圧-面積曲線からは凝縮型の膜を作っているとみられるポリステイン誘導体の単分子膜において、表面粘度は非常に幅広い範囲の表面積(残基当りの占有面積)において規制された。この性質は通常のポリペプチドではみられないものである。この表面粘度の異常性は、単分子中に 2 次元凝集体 "raft" が形成される故と推定される。

3) ポリ・O・アセチルゼリンの単分子膜

ポリ-O-アセチルゼリンの単分子膜は、水相中に塩が存在すると拡張型、存在しないと凝縮型の表面圧-面積曲線を示す。塩の存在は表面粘度には変化を与えない。これは、側鎖の親水性が強いために水中に没する程度が塩により変る故と思われる。単分子膜は、凝縮型、拡張型の二つに大別さ

れ、そのいずれに分類されるかは、膜として展開した物質に依るとされていたが、水相中の塩濃度に依り両方の性質を持ち得る膜の存在を明らかにした。

4) ポリ- γ -ベンジル-L-グルタメート単分子膜の分子量依存性

数種の重合度の異なるポリ- γ -ベンジル-L-グルタメート (PBLG) の単分子膜を比較すると、i) 表面圧一面積曲線の平坦部の表面圧が重合度が高くなるに従い低くなる。ii) 表面粘度の現れる面積 (残基当りの占有面積) が、重合度が低くなるに従い、狭くなることが知られた。表面圧一面積曲線、表面粘度一面積曲線の相関関係は、凝縮膜を作るとされていた PBLG も、重合度の低いものでは拡張膜の性格を持つことを示している。ここにも、raft 構造の形成が示唆されている。

5) 蛋白質、蛋白-糖脂質複合体の表面膜細菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 細胞壁から抽出された蛋白質 (Protein-P) と、蛋白-糖脂質複合体 (Comp-I) を水面上に展開し、その膜的性質を調べた。Protein-P は水面上に展開されたとき、unfolding は完全には行われず、非常に強固な構造を含んでいることが知られた。Comp-I の膜は、蛋白質の膜が水面上に作られ、糖脂質は蛋白質に吸着して水中に没している。そして糖脂質は、蛋白質の水中への溶解を妨げていることが知られた。

6) 表面粘度の shear rate 依存性

ポリペプチド単分子膜の表面粘度と、回転粘度計の回転速度の函数として測定し、ポリペプチド単分子膜は準塑性流動を示すことを知った。表面粘度の shear rate 依存性を表す式を、単分子中膜中に出来る raft 構造に基づいて導いた。shear rate D の下での、表面粘度 S は、

$$\eta = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + \beta D^{\alpha}}$$

で表される。ここで、 α は raft:raft contact と、raft-water interaction の表面粘度への寄与を示すパラメーター、 β は raft 構造の shearing action により破壊される速さを示すパラメーター、 η_0 と η_{∞} は shear rate 零と無限大の下での表面粘度を表す。この式で各ポリペプチド単分子膜の表面粘度を解析すると、 α 、 β の値の比較により、重合度の高いものは、強固な、大きな raft を形成することが推定された。同様な解析を Protein-P、Comp-I の膜について行い、Comp-I の膜には raft 構造以外の構造が形成されることが示唆され、5) において調べられた膜の一般性質による構造推定と一致した。

論文の審査結果の要旨

蛋白質の界面における挙動を知る目的でモデル物質として合成ポリペプチドを気/水または油/水界面に展開して研究することがひろく行なわれているが、従来、実験結果の再現性のわるいために研究の進んでいなかった L-システイン誘導体の重合物および D-L-セリン誘導体の重合物について詳細な研究を行なうと共にポリ- γ -ベンジルグルタメートの単分子膜について、表面粘性の重合度依存性を研究した。

単分子膜の性質は、通常表面圧、表面電位、および表面粘度によって特示されるが、従来これらは専ら手動式装置によって別個に測定させられ、相互の条件規制の困難さに再現性のわるい原因のある

ことを知り、この研究ではこれらの性質を一つの膜で同時に自記記録せしめる装置をつくり従来入り勝であった個人的誤差をほとんどなくすることに成功した。そのためL-ス테인誘導体重合物のように手動式では実験結果にバラツキの出たものがこの装置では条件を一定にして実験する限りよい再現性が得られるようになった。また表面粘度は主として回転振動の減衰を利用して行なわれていたものを Chaminade らの方法改良して用い、任意の shear rate における表面粘度測定を可能にし、表面膜の非ニュートン性についてしらべる方法を提供した。

その結果L-ス테인誘導体の重合物の表面粘度の異常性は単分子膜中に二次元的な aggregate が膜の圧縮にともなって先ず生成するためと考えられる。またポリ-O-アセチル-DL-セリンの膜では膜が凝縮型であるか、拡張型であるかは温度に依存するほか subphase の塩濃度にも依存することが明らかにされた。またポリ- γ -ベンジル-L-グルタメートの膜ではその凝縮拡張は低重合度のものでは重合度によって影響されることを明らかにした。一方、二次元的 aggregate の生成するときの粘性に関し若干の理論的考察を行なった。

これらの結果にもとづいて *Pseudomonas aeruginosa* の細胞膜から得られる蛋白と糖脂質との複合体の単分子膜について表面粘度をしらべて、この場合には二次元的 aggregate の生成以外に水面上に網目構造のごときものが生成している可能性について推論している。

以上鈴木君の研究は、単分子膜法に適用できる新しい装置の開発を行ない、それによって膜研究の基本的な方法にいくつかの知見を加え、従来困難とされていた二三の物質の測定に成功しているので理学博士の学位論文として十分価値あると認める。