

Title	変性蛋白質の復元機構の研究
Author(s)	油谷, 克英
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/30028
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	ゆ 油	たに 谷	かつ 克	ひで 英
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	1825	号	
学位授与の日付	昭和44年9月30日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	変性蛋白質の復元機構の研究			
論文審査委員	(主査) 教授 伊勢村寿三			
	(副査) 教授 奥貫 一男 教授 成田 耕造			

論 文 内 容 の 要 旨

生の蛋白質はある固有の立体構造をとっている。しかし、その立体構造の形成機構についてはほとんど解明されていない。本研究は蛋白質の高次構造形成の機構を知る一つ的手段として立体構造を完全に破かいした変性蛋白質の回復の過程を詳細に検討した。

用いた蛋白質はタカアミラーゼA, リボヌクレアーゼ, リゾチーム, バクテリアのアミラーゼである。これらの蛋白質が変性剤によりその立体構造を完全に破かいした後, 変性蛋白質が完全に生と同じ状態に回復する条件を検討し, 適当な条件下で完全に再生することを確めた。再生の実証及びその過程の検討は酵素活性, 旋光性, 円二色性, 紫外部の吸収の測定を用いた。

その結果, 立体構造を完全に破かいした変性蛋白質は次のような過程で生と同じ構造と活性を回復する。

1) Gross Structure の再形成

三次構造(骨格構造)は変性剤の除去と共に即座に形成される。このとき本来分子内部に埋もれているトリプトファン, チロシン残基の約半分だけ分子内部に埋めこまれる。

2) Fine Structure の再形成

S-S 結合, 水素結合, 疎水結合の再形成がおこるが, まず生の対と違ったもののできる確率が圧倒的に多い。次にそれぞれのまちがった(生の対と違う)結合が順次交換して直っていく。この過程で, 蛋白質間相互作用による回復の促進効果を示す。まちがった結合が交換されていくのに比例して酵素活性があらわれる。

以上の過程を経て生と全く同じ高次構造をもった蛋白質が形成する。

論文の審査結果の要旨

変性蛋白質は分子内ジスルフィド結合を還元的に切断して完全にランダムコイル化したものでも適当な条件で変性剤をのぞき再酸化すると生の構造に回復させることができる。このことは今日ほぼ一般的な現象として認められるようになり、生合成された蛋白質分子が一定のコンホメーションをとる機構を示唆するものとして注目されている。

しかしながら変性蛋白質の再生の過程を詳細に追究したものはほとんどない、油谷君はリゾチーム、タカアミラーゼA、リボヌクレアーゼ、枯草菌 α -アミラーゼなどの酵素蛋白質を用い、その酵素活性のほか物理化学的性質たとえば、旋光分散、円偏光二色性、紫外差スペクトル等を指標にして蛋白質の立体構造の復元と生物活性の発現との関連について研究し新しいいくつかの実験事実を発見しその過程の解明に寄与した。

まづリゾチームについては変性・還元物より変性剤をのぞくのみで分子内らせん構造のような二次構造の大部分は回復するが分子内ジスルフィド結合が2個以上できなければ生物活性があらわれず順次生の蛋白の立体構造に近づき酵素活性が生のもものと合致するときは空間的構造が完全に旧に復することが円二色性や紫外差スペクトルの測定から結論せられた。

酵素活性の回復とジスルフィド結合の完成とは必ずしも関係しないことはタカアミラーゼAについても検証された還元タカアミラーゼは全く活性はないが1個の -S-S- 結合の生成ですでに40%以上の活性を示す。然しながら100%活性回復には完全な空間構造の生の状態との一致が必要かについて従来若干の疑問があったが分子の微細構造の変化を忠実に反映する円二色性を用い生のリボヌクレアーゼとその変性物の再生過程及び完全再生のものとのスペクトルを比較して活性の完全回復時には空間構造も完全回復することが明らかにされた。

一方 -S-S- 交換酵素の存在が再生を促進するという説に対しての、この酵素がジスルフィド結合をもたない蛋白すなわち枯草菌 α -アミラーゼの再生を促進することを指摘した変性蛋白質の再生がきわめて低濃度よりも若干濃度の高いところでよく進むことから回復過程に対する共存蛋白質の相互作用による疎水結合、水素結合等の交換が促進されるものと推論している。

以上油谷君の研究は多くの興味ある事実の発見によって蛋白質化学に寄与しているので理学博士の学位論文として十分価値あるものと認めた。