



Title	Salmonella typhimuriumの硫酸基結合蛋白の一次構造に関する研究
Author(s)	今川, 忠
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30261
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

【1】

氏名・(本籍)	いま 川 忠
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2200 号
学位授与の日付	昭和46年3月25日
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Salmonella typhimuriumの硫酸基結合蛋白の一次構造に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 殿村 雄治 (副査) 教 授 佐藤 了 教 授 吉川 秀男 教 授 次田 皓

論 文 内 容 の 要 旨

最近、能動輸送系の分子機構を解明する手がかりとして、遺伝生化学的手法が用いられている。糖・アミノ酸・無機イオン等の能動輸送に重要な役割りを演ずるとみられる担体蛋白（輸送蛋白あるいは基質結合蛋白）が、主として細菌の細胞表面より種々の方法で抽出・精製され、あるものは結晶化されて、その物理化学的性質や再構成の実験も報告されている。

Salmonella typhimurium は細胞表面近くに特異的な硫酸基結合部位を有しており、この系はその特性から硫酸基に対する能動輸送系の一部である事が示唆されている。硫酸基とその結合蛋白との相互作用にはエネルギーを必要としない事、またその結合に際して結合蛋白自体の顕著なトランス・コンフォメーションは観察されていない事などから能動輸送の全過程の中では遺伝的な解析からは存在する事が示されているもののまだ単離されていない少なくとも三つの能動輸送に関与する物質とこの硫酸基結合蛋白との間に、何らかの相互作用が存在し、それがこの能動輸送系の機能に重要な意味をもつと考えられる。従って能動輸送の分子機構の解明に対する一つのアプローチとして輸送蛋白の一次及び高次構造、基質結合部位及び他の予想される分子表面上の機能部位の化学構造などを明らかにすることは膜の立体構造の解明と併せて重要な意義があると考ええる。

これらの観点から筆者は、硫酸基結合蛋白の一次構造を研究した。まず構造研究を行なうために、A.B.Pardeeの精製法の一部変法を用いて大量の硫酸基結合蛋白標品を精製した。この蛋白を熱変性後、各々トリプシン、サーモライシン、ペプシン分解及び希酸部分分解法を用いて分解し、その分解物をDowe X50×2カラムクロマトグラフィーで分画した。各分画は更にペーパークロマト及び高圧口紙電気泳動法で分離、精製された。得られた単一ペプチドのアミノ酸配列はPTC法及び酵素分解法、酸部分分解法等を用いて決定された。

以上の構造研究からこの蛋白のアミノ酸組成はLys27, His5, Arg11, Asp (Asn)42, Thr15, Ser17, Glu (Gln)30, Pro13, Gly24, Ala33, Val23, (Met1?), Ile16, Leu22, Tyr12, Phe12, Trp6, でおよそ

309のアミノ酸残基から成っており、分子量は約37,000であると推定された。このうち現在まで約95%のアミノ酸残基がペプチドの形で得られ、そのうち90%以上のアミノ酸配列が決定された。4種類の分解法によって得られたペプチドからは完全な一次構造は得られなかったが、これらのアミノ酸残基は数個の大きなペプチド断片と小さな幾つかのペプチドにまとめられた。

また、サーモライシン及びペプシンの特異性から考えると、この蛋白のN-末端及びC-末端は各々リジン及びアルギニンである事が示唆された。

この蛋白のアミノ酸分析値からこの蛋白は1モルのメチオニンを含むと考えられていたが、上記の構造研究からはメチオニンは見い出されず、またメチオニン結合の特異的切断法であるCNBr分解法で未変性蛋白を処理し、Sephadex G-75で分離しても、断片が出来た事を示す証拠は得られなかった。また蛋白の過蟻酸酸化物のアミノ酸分析からはメチオニンスルホンは見い出せなかった。以上のデータはこの蛋白中にはメチオニンが存在しない事を示唆するが、はっきりと、その結論を出すには更に詳細な実験をする必要がある。

現在、無水マレイン酸処理でLysの ϵ -アミノ基を可逆的に修飾した蛋白のトリプシン分解物から各々のペプチド間をつなぐ大きな橋渡しのペプチドを得る試みを行なっている。

論文の審査結果の要旨

近年バクテリアの膜を通しての種々の物質、例えば糖、アミノ酸および無機のイオンの輸送に関与した成分としてこれらの物質と特異的に結合する蛋白質が膜から分離されている。特にサルモネラ菌の硫酸基の能動輸送に関係した硫酸基結合蛋白質はPardeeによってすでに結晶化され、その物理化学的研究も進んでいる。しかし現在までのところ物質の輸送と関係した結合蛋白質の一次構造の研究はほとんどなされていなかった。

今川君はPardeeらの方法を一部改変してサルモネラ菌の硫酸基結合蛋白質を多量に精製し、その一次構造の決定を試みた。すなわちこの蛋白質をトリプシン、サーモライシン、ペプシンおよび希酸部分分解法を用いて分解し、分解物から多種類のペプチドを分離精製し、それらの一次構造を決定した。この蛋白質のアミノ酸組成はLys₂₇, His₅, Arg₁₁, Asp (Asn)₄₂, Thr₁₅, Ser₁₇, Glu (Gln)₃₀, Pro₁₃, Gly₂₄, Ala₃₃, Val₂₃, (Mat₁?), Ile₁₆, Leu₂₂, Tyr₁₂, Phe₁₂, Trp₆で、およそ309のアミノ酸残基から成っており、分子量は約37,000であると推定された。同君のこの研究によってこれら構成アミノ酸残基の理論値の約95%がペプチドとして得られ、その90%以上のアミノ酸結合順序が決定された。さらに分解酵素の特異性からN末端およびC末端は各々リジンおよびアルギニンであることが示唆され、その近傍の一次構造が明らかにされた。

現在のところ一次構造の完全な決定にはまだ成功していないが、今川君のこの研究は物質輸送と関係して重要な生理的役割を持っている結合蛋白質の一次構造を初めてかなりの程度まで明らかにしたものであり、今後これら蛋白質の構造と生理機能の解明を進める上で重要な基礎となるものと思われる。以上のごとく今川君の業績は膜における物質輸送の研究に新しい知見を加えたものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。