

Title	蛋白質中の ϵ -N-メチル化リシンおよびグアニジノ-N-メチル化アルギニン体Ⅰウシ脳蛋白質からの分離同定Ⅱ蛋白質中のメチルアミノ酸の定量方法Ⅲ自然界、哺乳動物での存在と分布
Author(s)	松岡, 征夫
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30740
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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

[3]

氏名・(本籍)	まつ 松	おか 岡	ゆき 征	お 夫
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	2615	号	
学位授与の日付	昭和47年	5月	31日	
学位授与の要件	医学研究科	生理系		
学位論文題目	学位規則第5条第1項該当 蛋白質中の ϵ -N-メチル化リシンおよびグアニジノ-N-メチル化アルギニン体 I ウシ脳蛋白質からの分離同定 II 蛋白質中のメチルアミノ酸の定量方法 III 自然界、哺乳動物での存在と分布			
論文審査委員	(主査) 教授	佐野	勇	
	(副査) 教授	坂本	幸哉	教授 和田 博

論文内容の要旨

〔目的〕

ヒト尿中に3-メチルヒスチジン、 N^{ϵ} -モノ、ジおよびトリメチルリシンが排泄されているが、これらのメチルアミノ酸は蛋白質に由来することが知られている。最近ヒト尿中より N^{ϵ} 、 N^{ϵ} および N^{ϵ} 、 N^{ϵ} -ジメチルアルギニンが同定されたが、これらのメチルアルギニンも蛋白質に由来するものと考えられる。そこで本研究ではウシ脳蛋白質を用いてメチルアルギニン体の存在を検討した。また蛋白質中のメチルアミノ酸残基の生物学的意義を知るため、蛋白質のメチルリシンおよびメチルアルギニン体の各種生物における存在ならびに細胞内分布、さらにラット成長および再生肝におけるこれらのメチルアミノ酸含量の変動について検討した。

〔方法ならびに成績〕

1. メチルアルギニン体ならびにメチルリシン体の分離同定

ウシ脳蛋白質分画 1.2kgからえた塩基性脂肪族アミノ酸分画を6×97cmAmberlite 1R-120(NH_4^+ 型)カラム上でアンモニア濃度を段階的にあげて展開した。各メチルアミノ酸を含む分画を集め、それに含まれている多量のリシンは結晶化およびリシン脱炭酸酵素で、アルギニンはアルギナーゼで分解除去した。処理した分画を再度4×55cm Amberlite 1R-120(NH_4^+ 型)カラム上でクロマトグラフィーを行った。各メチルアミノ酸を含む分画をとり、目的物質をさらにイオン交換樹脂を用いて単離し、結晶化させた。表1にその結果を示した。各物質の同定は元素分析、赤外スペクトル、NMR、アルカリ水解さらに合成品との高圧濾紙電気泳動および濾紙クロマトグラフィー上の性質を比較することにより行った。本実験において N^{ϵ} -モノメチルアルギニンが新たに分離同定された。

2. メチルアミノ酸の存在と分布

蛋白質中のメチルアミノ酸の測定は、蛋白質分画(200~250mg)を酸水解し、塩基性脂肪族アミ

ノ酸分画をとり、過剰のリシンおよびアルギニンをリシン脱炭酸酵素およびアルギニンデイミナーゼで除いたのちアミノ酸自動分析した。N^ε-モノメチルリシンは残存するリシンと重さなり測定不能であった。表2に示すごとく蛋白質中のメチルアミノ酸は自然界のすべての生物に広く含まれていた。さらにラットの各臓器および各細胞内分画の蛋白質にも広く含まれていた。興味あるのはN^ε-ジメチルリシンおよびN^G、N^G-ジメチルアルギニンが核蛋白質に多く、しかも前者が酸可溶性核蛋白質（15~23μ moles / g 蛋白質）に、後者が水可溶性核蛋白質（12~21μ moles）に高濃度含まれていたことである。核にメチルアミノ酸濃度が高いことは、有核と無核赤血球の蛋白質中の含量を比較することによっても確かめられた。

3. ラット成長および再生肝における変動

ラット出生直後、肝および脳の蛋白質中のN^ε-ジメチルリシン（1.4~1.8μ moles）およびN^G、N^G-ジメチルアルギニン（2.7~5μ moles）の濃度は高いが、その後1ヶ月間で成熟レベル（0.6~0.8、1.0~1.5μ moles）に減少した。しかしDNAあたりで表わすと両メチルアミノ酸ともに著明な増減がないと考えられた。再正肝ではN^G、N^G-ジメチルアルギニンが肝摘出後若干の増加を示すほかは、他のメチルアミノ酸には増減が認められなかった。そのほか細菌の増殖期と静止期、植物の各発芽時期さらに昆虫の各変態期の蛋白質中のメチルアミノ酸含量を比較したが、有意義な増減は認められなかった。

〔総括〕

1. ウシ脳蛋白質より3種のメチルリシン体のほかN^G、N^G-およびN^G、N^G-ジメチルアルギニンさらにN^ε-モノメチルアルギニンをも分離同定した。
2. 蛋白質中のメチルアミノ酸は微生物から高等植物まで広く分布し、細胞内では核蛋白質に高濃度含まれていた。
3. 成長および再生肝において蛋白質中のメチルアミノ酸含量は有意な増減を示さなかった。

表 1 分離したメチルアミノ酸

N ^ε -モノメチルリシン	$\text{CH}_3\text{-NH-C(CH}_2)_4\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$	3.5-g (HCl塩)
N ^ε -ジメチルリシン	$(\text{CH}_3)_2\text{-N-(CH}_2)_4\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$	結晶化せず
N ^ε -トリメチルリシン	$(\text{CH}_3)_3\text{-N-(CH}_2)_4\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$	7mg×
N ^G -モノメチルアルギニン	$\text{CH}_3\text{-NH-CN(H)-NH-(CH}_2)_3\text{-CHNH}_2\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$	320mg×
N ^G ,N ^G -ジメチルアルギニン	$(\text{CH}_3)_2\text{-N-CN(H)-NH-(CH}_2)_3\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$	22mg×
N ^G ,N ^G -ジメチルアルギニン	$\text{CH}_3\text{NH-CN(CH}_3\text{)-NH-(CH}_2)_3\text{-CHNH}_2\text{-COOH}$	120mg×
× P-ヒドロキシアゾベンゼン-P-スルホン酸塩		

表 2 種々の生物蛋白質中のメチルアミノ酸含量 (μ moles / g 蛋白質)

	N ^ε -ジメチルリシン	N ^ε -トリメチルリシン	N ^G -モノメチルアルギニン	N ^G 、N ^G -ジメチルアルギニン	N ^G 、N ^G -ジメチルアルギニン
真正細菌 (4種)	0.04-0.37	0.04-0.23	<0.01	<0.01	<0.01
放射菌 (2)	0.65-2.23	0.3-0.4	0.49-0.92	0.16	0.01<0.03
酵母 (11)	0.08-1.58	0.45-1.86	0.07-0.44	0.58-1.53	0.04-0.06
高等植物 (3)	0.12-0.28	0.23-1.20	0.08-0.19	0.22-1.37	0.06-0.13
昆虫 (1)	0.47-1.43	1.86-2.68	0.05-0.06	0.52-0.58	0.01<0.03
鳥類 (2)	0.34-0.59	0.55-2.50	0.07-0.39	0.27-1.31	0.03-0.16
哺乳動物 (4)	0.36-2.07	0.47-2.18	0.06-0.90	0.53-1.41	0.08-0.30

論文の審査結果の要旨

この研究によって今までヒストン蛋白、鞭毛蛋白に発見されていたメチルリジン体が哺乳動物の種々の蛋白にも存在し、またメチルリシン体のみならずメチルアルギニン体も蛋白質の構成アミノ酸であることを明らかにした。

すなわち今まで知られていなかった3種のメチルアルギニン体を発見しメチルリシン体およびメチルアルギニン体の同時定量法、これらの物質の生物界の分布、哺乳動物組織および組胞蛋白質中の分布さらに哺乳動物の成長にともなう変化を検討した。

このことは蛋白質の3次構造の面に重要な知見与えるとともに蛋白質修飾の生物学的意義に対し新しい分野を開くものとして蛋白質科学の面で評価される研究である。