



Title	ドデシル硫酸ナトリウムと膜内在性蛋白質の相互作用
Author(s)	三宅, 淳
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32623
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

氏名・(本籍)	三宅 淳
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 4878 号
学位授与の日付	昭和55年3月25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	ドデシル硫酸ナトリウムと膜内在性蛋白質の相互作用
論文審査委員	(主査) 教授 京極 好正 (副査) 教授 浜口 浩三 教授 堀尾 武一 助教授 高木 俊夫

論文内容の要旨

生体膜に存在する蛋白質、特に膜内存性蛋白質は単純な水溶媒系に不溶であり、分離分析のために界面活性剤で可溶化することが必要である。しかし、この種の蛋白質と界面活性剤との相互作用については系統的な研究がない。水溶性蛋白質に由来する蛋白質ポリペプチドとドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の相互作用については、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動による分子量評価法の基礎として大いに研究されており、特に蛋白質の種類によらず自重の約1.4倍のSDSを結合することが知られている。しかし膜内在性蛋白質では自重の2~4倍ものSDSを結合することが報告されており、この種の界面活性剤との相互作用に於て、膜内在性蛋白質と水溶性蛋白質では本質的な相異があると考えられる。

本研究では上記現状を考慮して、SDSを界面活性剤の代表とし、光合成細菌*Rhodospirillum rubrum*の光合成顆粒クロマトホアの膜より抽出精製した膜内在性蛋白質(以下クロマトホア膜蛋白質と呼ぶ)を膜内在性蛋白質の例として用い、両者の相互作用を以下の3点について新たな手法の開発を含め検討したものである。すなわち、1) 膜内在性蛋白質の解離会合がSDS平衡濃度の変化に伴って生じるか、2) 解離会合に伴う構造変化はあるか、3) 膜内在性蛋白質に結合したSDSは水溶性蛋白質由来のポリペプチド鎖に結合したSDSとどの様な相異があるか。

上記目的1)のために近年開発された低角レーザー光散乱(LALLS)法をSDSで可溶化され、SDSと複合体を作った蛋白質ポリペプチドの分子量評価に適用し、その効用を検討した。膜内在性蛋白質で分子量既知のものは僅少かつ入手し難いため、水溶性蛋白質由来のポリペプチドを還元し、カルボキシアミドメチル化したものを試料として用いた。LALLS法は従来の光散乱法に比して異物

の除去がきわめて容易であり、サンプル量も少なくてすみ、かつ大粒子について角度零への外挿を必要とせず、精度の高い測定のできる長所がある。本研究では Toyo Soda LS-8型機を用い、試料注入システムを改良することにより、SDSと複合体を作った蛋白質ポリペプチドの分子量測定に対し、この手法は十分な精度と実用上の長所を持つことが明らかになった。LALLS法では超遠心による沈降平衡法と異り、複合体の荷電に影響されることなく、かつ結合した SDS量の測定をすることなしで蛋白質ポリペプチド部分の分子量を測定することができ、SDS等のイオン性界面活性剤で可溶化された蛋白質の分子量評価に最適であると考えられる。LALLS法をクロマトホア膜蛋白質の分子量評価に用いた結果、この蛋白質の分子量は8,300で、cmc以下のSDS平衡濃度では高度に会合することが明らかになった。しかし、円偏光二色性の測定から、この蛋白質の骨格構造は会合状態によって変化せず、変性を伴わない解離がこの蛋白質に対する SDSの結合サイトを提供すると言う様式が明らかになった。また、Acridine Orangeをプローブとし蛋白質ポリペプチド鎖に結合した SDSクラスター中に挿入し、蛍光の偏光解消を測定して SDSクラスター内部でのこの色素の回転拡散を測定した結果、クロマトホア膜蛋白質に結合した SDSは水溶性蛋白質由來の蛋白質ポリペプチド鎖に結合した SDSよりもより looseに結合しており、SDS純ミセル様の性格を有することが判明した。以上の結果、クロマトホア膜蛋白質は、特異な膜内存在様式の反映として、水溶性蛋白質由來の蛋白質ポリペプチドとは大いに異った SDSとの相互作用様式を有することが明らかになった。これらの結果並に、本研究で初めて可溶化蛋白質に適用された低角レーザー光散乱法は膜内在性蛋白質の特性評価に極めて有効であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

生体膜蛋白質の多くは水に難溶であり、その可溶化のために界面活性剤の添加を必要とするものが多い。特にドデシル硫酸ナトリウム (SDS) は、それらのうちで最も非選択的に生体膜蛋白質を可溶化することが知られている。従って SDS 存在下で膜蛋白質の特性評価は重要であり、特に SDS- ポリアクリルアミドゲル電気泳動法は分子量評価に頻用されている。

三宅君は上記の簡便手法が膜蛋白質においては SDS の相互作用の特異性のため、しばしば誤った評価を与えることを指摘した。そしてその対策として、必要に応じ厳密な分子量決定を可能とし、かつ日常化の可能な手法の検索を行った。その結果、近時開発された低角レーザー光散乱法が上記の目的に最適であることを慎重な検証により明らかにするとともに、蛋白質試料の測定に適合するよう同法の周辺装置の整備に成功した。実際に光合成細菌クロマトフォア膜蛋白質の一つについて同法を適用し、その分子量を確定するとともに、その可溶化の様式についても有用な知見を得た。またけい光プローブを用いることにより、この膜蛋白質に結合した SDS の状態解析を行ない。水溶性蛋白質への結合と比較し、そこに量的のみならず質的な差異のあることを実証した。

以上の成果は、生体膜蛋白質の特性評価、さらに分離分析手法の発展のために有用な基礎的知見を提供したものであり、理学博士の学位論文として十分価値あると認める。