



Title	ニワトリのリボフラビン結合タンパクに関する研究
Author(s)	濱詰, 康樹
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35193
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

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	濱詰康樹
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 7181 号
学位授与の日付	昭和 61 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科 有機化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ニワトリのリボフラビン結合タンパクに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 池中 徳治 (副査) 教授 福井 俊郎 教授 崎山 文夫

論文内容の要旨

ニワトリの卵白および卵黄中にはリボフラビンを結合したタンパク質、リボフラビン結合タンパク (RBP) が含まれている。卵白中の RBP (White-RBP) は輸卵管で合成されるが、卵黄中の RBP (Yolk-RBP) は肝臓で合成され、血液中に分泌され (Plasma-RBP)、血液によって卵巣に運ばれ未熟卵中に取り込まれる。

これまで White-、Yolk- および Plasma-RBP の詳しい構造研究はなされておらず、卵黄タンパクの特異な取り込み機構の研究には、RBP の構造を知ることが重要であると考えられるので本研究を行った。

ニワトリの卵白、卵黄中から White-RBP ならび Yolk-RBP を精製し性質を調べた。両 RBP ともホスホセリンを含む糖タンパクで、両者はグルタミン酸を除きほとんど同一のアミノ酸組成を示した。しかし糖組成は大きく異なっていた。

エドマン法、酵素的および化学的切断法を用いて決定した White-RBP のアミノ酸配列を図 1 に示す。White-RBP は 219 残基のアミノ酸からなり、C-末端近くにホスホセリンがクラスターとして存在していた。また、RBP 中の 9 対の S-S 結合位置を決定した (図 2)。

1 <Glu-Gln-Tyr-Gly-Cys-Leu-Glu-Gly-Asp-Thr-His-Lys-Ala-^{Lys}_{Asn}-Pro-Ser-Pro-Glu-Pro-Asn-
 10 Met-His-Glu-Cys-Thr-Leu-Tyr-Ser-Glu-Ser-Ser-Cys-Cys-Tyr-Ala-Asn-Phe-Thr-Glu-Gln-
 20 CHO
 30 Leu-Ala-His-Ser-Pro-Ile-Ile-Lys-Val-Asn-Ser-Tyr-Trp-Asn-Arg-Cys-Gly-Gln-Leu-
 40 Ser-Lys-Ser-Cys-Glu-Asp-Phe-Thr-Lys-Ile-Glu-Cys-Phe-Tyr-Arg-Cys-Ser-Pro-His-
 50 Ala-Ala-Arg-Trp-Ile-Asp-Pro-Arg-Tyr-Thr-Ala-Ala-Ile-Gln-Ser-Val-Pro-Leu-Cys-Gln-
 60 Ser-Phe-Cys-Asp-Asp-Trp-Tyr-Glu-Ala-Cys-Lys-Asp-Asp-Ser-Ile-Cys-Ala-His-Asn-Trp-
 70 CHO
 80 Leu-Thr-Asp-Trp-Glu-Arg-Asp-Glu-Ser-Gly-Glu-Asn-His-Cys-Lys-Ser-Lys-Cys-Val-Pro-
 90 Tyr-Ser-Glu-Met-Tyr-Ala-Asn-Gly-Thr-Asp-Met-Cys-Gln-Ser-Met-Trp-Gly-Glu-Ser-Phe-
 100 Lys-Val-Ser-Glu-Ser-Ser-Cys-Leu-Cys-Leu-Gln-Met-Asn-Lys-Lys-Asp-Met-Val-Ala-Ile-
 110 Lys-His-Leu-Leu-Ser-Glu-Ser-Ser-Glu-Glu-Ser-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Glu-Glu-His-
 120 Ala-Cys-Gln-Lys-Leu-Lys-Phe-Glu-Ala-Leu-Gln-Gln-Glu-Gly-Glu-Glu
 130 CHO
 140 Leu-Thr-Asp-Trp-Glu-Arg-Asp-Glu-Ser-Gly-Glu-Asn-His-Cys-Lys-Ser-Lys-Cys-Val-Pro-
 150 Tyr-Ser-Glu-Met-Tyr-Ala-Asn-Gly-Thr-Asp-Met-Cys-Gln-Ser-Met-Trp-Gly-Glu-Ser-Phe-
 160 Lys-Val-Ser-Glu-Ser-Ser-Cys-Leu-Cys-Leu-Gln-Met-Asn-Lys-Lys-Asp-Met-Val-Ala-Ile-
 170 Lys-His-Leu-Leu-Ser-Glu-Ser-Ser-Glu-Glu-Ser-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Glu-Glu-His-
 180 Ala-Cys-Gln-Lys-Leu-Lys-Phe-Glu-Ala-Leu-Gln-Gln-Glu-Gly-Glu-Glu
 190 CHO
 200 Leu-Thr-Asp-Trp-Glu-Arg-Asp-Glu-Ser-Gly-Glu-Asn-His-Cys-Lys-Ser-Lys-Cys-Val-Pro-
 210 Ala-Cys-Gln-Lys-Leu-Lys-Phe-Glu-Ala-Leu-Gln-Gln-Glu-Gly-Glu-Glu
 219

図1 卵白、卵黄-RBPのアミノ酸配列（卵黄-RBPは線で囲んだ部分が欠除している）N末端はピログルタミン酸(<Glu)、CHOは糖鎖の結合部位、Pはリン酸を示す。

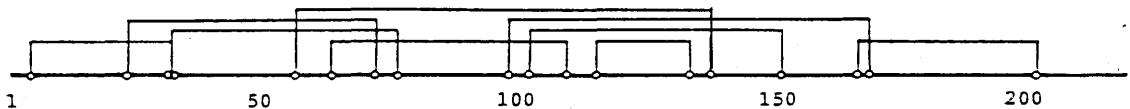


図2 卵白リボフラビン結合タンパクのS—S結合位置

White-RBPの構造をYolk-およびPlasma-RBPの構造と比較したところ、Plasma-RBPはWhite-RBPと同じアミノ酸配列をしていたが、Yolk-RBPはC-末端アミノ酸が11あるいは13残基短いことが判明した。それゆえ、Plasma-RBPの未熟卵への取り込みの際にC-末端ペプチドの切断が起こっているものと考え、未熟卵膜中のC-末端部分を切断するプロテアーゼの検索を行った。

RBPの切断部位アミノ酸配列を含むデカペプチドを合成し、活性測定用の基質とした。未熟卵膜抽出液から2種類のエンドペプチダーゼIとIIを部分精製し、その性質を調べた。酵素I、IIはそれぞれ合成基質のPlasma-RBPの切断部位に相当するLys-PheおよびLeu-Leu結合をおもに切断する活性を有していた。しかし、これらの酵素をPlasma-RBPに作用させたが、in vitroの溶液系では予想していたC-末端部の切断は起こらなかった。それゆえPlasma-RBPは未熟卵膜中で特異な構造変化をうけ、これらの酵素によりC-末端部の切断が起こるのではないかと思われる。

論文の審査結果の要旨

ニワトリ卵の卵白、卵黄中には、リボフラビン結合タンパク（RBPと略す）が含まれている。卵白RBPは輸卵管で合成されるが、卵黄タンパクは肝臓で合成され、血液を通して卵巣中で未熟卵中に取り込まれる。これらRBPの機能および卵黄タンパクの血液より未熟卵への取り込み機構を研究するために、卵白、卵黄ならびに血液RBPの構造を研究することは非常に重要である。

濱詰君はまず磷酸を含む糖タンパクである卵白RBPのアミノ酸配列（219残基）を決定し、さらにRBP中に含まれる9個の-S-S-結合の位置を決定し、このタンパクの化学構造を決定した。濱詰君は卵白、卵黄、血液RBPのアミノ酸配列を比較し、卵白、血液RBPは同じアミノ酸配列をしているが、卵黄RBPは両RBPにくらべて、C-末端アミノ酸が11あるいは13残基だけ短かいことを見いだした。この結果から、血液RBPが卵黄中に取り込まれる際にC-末端ペプチドが切断されると予想し、未熟卵膜にRBPのC-末端部のLeu(206)-Leu(207)およびLys(208)-phe(209)結合を切断するプロテアーゼの存在について検索した。この研究においてRBPの切断部位アミノ酸配列を含むデカペプチドを合成して基質として用い、未熟卵膜抽出液から2種類のエンドペプチダーゼIとIIを部分精製した。これら酵素はいずれも金属プロテアーゼでそれぞれ合成基質のLys-pheおよびLeu-Leu結合を切断する活性を有することを見いだした。これら酵素を血液RBPに作用させたが、in vitro系ではペプチド結合の切断は起らなかったので、RBPは未熟卵膜中で特異な構造変化をうけ、これら膜結合プロテアーゼによりC-末端部が切断されるものと推定した。

以上濱詰君の研究は、ニワトリ卵白リボフラビン結合タンパクの化学構造を決定し、血液RBPが未熟卵中に取り込まれる時、C-末端ペプチドの切断が起ることを見いだし、さらに未熟卵膜中にC-末端ペプチド切断プロテアーゼに関する知見を得たもので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。