



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 核磁気共鳴法による巨大タンパク質の研究：免疫グロブリンGの構造と動的挙動                                                                                                                                                                                                                                 |
| Author(s)    | 林, 文晶                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 1988, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35962">https://hdl.handle.net/11094/35962</a>                                                                                                                                                                                  |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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） | はやし<br>林                                           | ふみ<br>文 | あき<br>晶 |
| 学位の種類   | 理                                                  | 学       | 博 士     |
| 学位記番号   | 第                                                  | 8069    | 号       |
| 学位授与の日付 | 昭和63年3月25日                                         |         |         |
| 学位授与の要件 | 理学研究科無機及び物理化学専攻<br>学位規則第5条第1項該当                    |         |         |
| 学位論文題目  | 核磁気共鳴法による巨大タンパク質の研究<br>－免疫グロブリンGの構造と動的挙動－          |         |         |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 京極 好正<br>(副査)<br>教授 桑田 敬治      教授 千原 秀昭 |         |         |

## 論文内容の要旨

NMR法は、核スピンを持った個々の原子核を1本のシグナルとして観測でき、そしてそのシグナルの挙動から溶液中の分子を原子レベルで調べることができるという長所を持った、ほとんど唯一の、そして強力な測定手段である。しかしながら一般に分子量が数万を超える分子では、激しい共鳴線の重なりと線幅の広がりによって通常のNMRの測定手段では解析はほとんど絶望的になる。本研究では、光CIDNP法によって構造的見地から、また、スピン拡散法およびスピネコー法により運動性の立場から、巨大タンパク質である免疫グロブリンG (IgG) のNMRスペクトルの解析を試みた。

NMRスペクトルの解析にあたって、まず生ずる大きな困難はシグナルの帰属である。特にIgGのような巨大タンパク質の場合、解析可能なシグナルを分離することさえ容易ではない。これまでは分子内で特別に高い運動性を持ったヒンジ領域と、比較的シャープで分離のよい状態で観測することのできるいくつかのHis由来のシグナルが解析されているにすぎなかった。そこで、最初に光CIDNP法が適用され、いくつかの表面に露出した芳香族残基をとり出すことができた。これらの残基は、サブクラスと呼ばれるいくつかのアミノ酸残基の置換を含む一群のIgGを用いることにより帰属され、また結晶構造との比較によりCIDNPが観測されるための構造的特徴が明らかとなった。また、解析可能なシグナルのブロードなスペクトルからの分離という点ではスピネコー法が有効であることがわかった。CIDNPの結果との比較から、スピネコースペクトルで観測されたシグナルは運動性の点でCIDNPの観測されるシグナルとほぼ同じ環境に存在すること、すなわち、二次構造をつくらない露出したloop上の残基に由来していることが明らかになった。この点でスピン拡散スペクトルはこれとは異なり、ドメインというプロトン溜の内にいるか外にあるかという粗い構造的特徴が反映されることがわかった。

た。

以上より、3つの手法を適当に組み合わせることにより、NMR上のシグナルがタンパク質分子のどういう運動性を持った領域に由来しているかを大まかに推定することが可能となり、そのうち露出したloopセグメント以上の運動性をもつものが比較的線幅が狭く解析可能であることが示唆された。

以上の結果に基づいて、実際に免疫グロブリンGのサブクラス間の比較、分子内に異常を持つIgGであるリウマチIgGクリオグロブリンの解析が行われた。この結果、サブクラスはNMRで十分識別でき、それらの間の四次構造の違いも示唆された。またリウマチIgGでは、この研究によりはじめてサブクラス含量の異常が見出された。クリオグロブリンへの応用では、沈澱生成に伴う相互作用部位を推定することができた。

ここで得られた結果は、これまでの解析法では得難いものであり、これらの手法は、今後巨大タンパク質やタンパク質間相互作用の解析に重要となってくるであろう。

### 論文の審査結果の要旨

近年核磁気共鳴法は蛋白質の立体構造決定に用いられることで着目されている。しかしその方法が適用できる蛋白質は分子量がせいぜい1万あたりである。自然界に存在する蛋白質にはもっと巨大なものの方が多い。一般に分子量の大きい分子の共鳴線の線巾が広がり、重なりが多いから、そこから情報を得るには特別の工夫がいる。林君はこの問題に挑戦し、対象として分子量15万の免疫グロブリンG (IgG) をとりあげ、光CIDNP (化学誘導動的核分極)、スピン拡散、CPMGスピネコーの方法を用いて、検出されるシグナルの帰属と、シグナルとして現れるのに必要な要因を明らかにした。IgGの光CIDNPを測定すると数本のヒスチジン、チロシン残基のピークが認められる。それらがどの残基に由来するかはアミノ酸置換の起こったIgGを何種類か測定することによって可能となった。スピン拡散の方法では数少ないピークが認められるだけであるが、スピネコー法を用いるとより本数の多いピークが鋭く観測される。観測されたピークを与える残基の位置をX線解析像と対応させてみると、これらのピークはループ部分の運動性の高い領域に局在化していることがわかった。スピネコー法は $T_2$ の違いによって分離しているので運動性の違いを最も忠実に反映しているのに対して、光CIDNPではそれに加えて表面への露出度が要求され、スピン拡散の場合はスピン溜りとなるドメインから孤立していることが要求される、といったことを明らかにした。これらの解析で明らかになったことを用いて、低温で沈澱を生じやすいクリオグロブリンのスペクトルを解析し、分子間相互作用を起こしやすい個所を同定した。

以上のように林君の研究は巨大蛋白質の構造や物性をNMRでいかに攻めるか、その方法を示し、それらの方法が互いにどのような特徴を持つかを考察した点は、今後の巨大蛋白質の構造研究に有用であり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。