



Title	Folding Mechanism of Bovine $\beta$ -Lactoglobulin, a Predominantly $\beta$ -Sheet Protein : Implication for Non-Hierarchical Protein Folding
Author(s)	濱田, 大三
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39974">https://hdl.handle.net/11094/39974</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">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	瀬田 大三
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第12948号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Folding Mechanism of Bovine $\beta$ -Lactoglobulin, a Predominantly $\beta$ -Sheet Protein — Implication for Non-Hierarchical Protein Folding — (主に $\beta$ -シート構造からなる、ウシ・ $\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ反応機構 - 非階層的折れたたみ反応機構 -)
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀
	(副査) 教授 京極 好正 教授 高木 俊夫 助教授 後藤 祐児

### 論文内容の要旨

#### [序]

蛋白質の折れたたみ反応機構を研究することは、数々の生命現象を理解する上で重要である。また、折れたたみ反応機構を解明することにより、ゲノム・プロジェクト等で同定されたアミノ酸配列から、蛋白質の立体構造や機能を予測したり、人工蛋白質の合成を行なうことが可能となる。蛋白質の折れたたみ反応機構の研究は、多くの研究分野に注目されている。

私は、主に  $\beta$ -シート構造からなる蛋白質である、ウシ・ $\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ反応機構について、以下に示す方法により調べてきた。これらの結果から、ウシ・ $\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ反応機構が、ネイティブ構造とは異なる二次構造をもつ中間状態を形成する、非階層的折れたたみ機構であることが示唆された。この結果は、多くの蛋白質で見いだされている、階層的な折れたたみ反応機構と異なっており、蛋白質の折れたたみ反応機構を解明する上で、重要である。

#### [実験結果]

##### 1. $\beta$ -ラクトグロブリンのペプチド鎖の立体構造

ウシ・ $\beta$ -ラクトグロブリンAのペプチド鎖を調製し、アミノ酸配列上、近傍に存在する残基間の相互作用（局所的相互作用）により形成される立体構造について、円偏光二色性（CD）、核磁気共鳴スペクトルを用いて調べた。その結果、本来、 $\beta$ -ストランド領域を占めるペプチド鎖が、高い  $\alpha$ -ヘリックス形成傾向を示す場合があることがわかった。

##### 2. $\beta$ -ラクトグロブリンの速度論的中間状態

$\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ反応機構を明らかにするため、ストップトフロー CD を用いて、折れたたみ中間状態の立体構造について調べた。その結果、測定の不感時間以内に、ネイティブ状態にはない  $\alpha$ -ヘリックス構造をもつ、中間状態が形成されることが示唆された。

##### 3. $\beta$ -ラクトグロブリンの平衡論的中間状態

平衡条件下での変性剤変性過程で形成される、 $\beta$ -ラクトグロブリンの中間的状態の立体構造について、遠紫外部のCDスペクトルを用いて調べた。その結果、平衡論的な中間状態は、速度論的な折れたたみ中間状態の立体構造に似た、 $\alpha$ -ヘリックス構造をもっていることが示唆された。

#### [結論]

以上の実験から、次のことが示された。

1.  $\beta$ -ラクトグロブリンのアミノ酸配列は、本来、ネイティブ構造とは異なる $\alpha$ -ヘリックス構造を形成する傾向がある。

2.  $\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ中間状態は、ネイティブ構造とは違った二次構造をもつ可能性がある。この結果は、他の蛋白質で示されている、階層的な折れたたみ反応機構と異なる。

3.  $\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ中間状態は、ネイティブ状態や高度な変性状態と同様な、巨視的な構造状態であり、ネイティブ構造に似た、他の蛋白質の折れたたみ中間状態と同様な機構により安定化されている。

以上の結果は、 $\beta$ -ラクトグロブリンの折れたたみ反応機構が、非階層的な折れたたみ反応であることを示唆している。 $\beta$ -ラクトグロブリンの詳細な折れたたみ反応機構について調べることは、折れたたみ反応における、局所的・非局所的相互作用の寄与を理解する上で重要である。

#### 論文審査の結果の要旨

$\beta$ -ラクトグロブリンが折れたたまれる反応過程を詳細に解析し、この蛋白質は折れたたみの初期に、最終的なネイティブ構造とは異なる立体構造をとることを明らかにした。本実験結果により、蛋白質の非階層的折れたたみ過程の生物学的意味付けが可能となった。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。