Osaka University Knowledge Archive

Title	Solution Properties and Conformational Change of a Membrane Protein in Surfactant Solutions-An Approach for Solving the Protein Folding Problem for Membrane Proteins
Author(s)	Ohnishi, Satoshi
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3155182
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名	大西　哲（おおにし　さとし）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　14429　号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子学専攻
学位論文名	Solution properties and conformational change of a membrane protein in surfactant solutions －An approach for solving the protein folding problem for membrane proteins－ （界面活性剤存在下における膜蛋白質の溶存状態と構造変化）
論文審査委員	（主査） 教　授　後藤　祐児 （副査） 教　授　森島洋太郎　　教　授　則末　尚志　　助教授　亀山　啓一

論文内容の要旨

蛋白質を構成するポリペプチドが特定の立体構造を形成する機構の解明は，学術的視点からだけでなく，人工的に設計された蛋白質の応用の立場からも重要な課題となっている。現在まで，蛋白質の折れたたみの問題は，先進的な手法によって詳細な検討が進められてきたが，そのほとんどは限られた種類の水溶性球状蛋白質を対象としたものであり，膜蛋白質の構造形成の機構については，実験的な知見はきわめて少ないのが現状である。本研究では，典型的な生体膜内在性の蛋白質である大腸菌OmpAを対象とし，その構造変化に関する定量的な実験的知見の集積を行い，この膜蛋白質の構造形成の機構についての特徴的な側面を明らかにした。

OmpAは，陰イオン性界面活性剤ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）存在下では，加熱により不可逆的に変性する。この変性状態のOmpAは，非イオン性界面活性剤オクチルグルコシド（OG）を添加することによって変性前の構造に復元することが知られている。本研究では，この実験系における膜蛋白質の構造変化とそれぞれの界面活性剤との相互作用についての定量的な知見を得るために，様々な組成のSDSとOGとの二成分界面活性剤混合系を用いてこの膜蛋白質の溶存状態の検討を行い，OmpAは，この混合系における構造変化に際して会合などの集合状態の変化は示さないという結果を得た。また，変性状態ならびに未変性状態に対するそれぞれの界面活性剤の結合量を評価したところ，OmpAの変性はSDSの変性能のみに由来するものであり，OGの添加はSDSとの混合ミセル形成によりSDSの活動度の減少を促し，その結果，この蛋白質の変性状態からの復元が導かれるという機構が明らかになった。

また，未変性状態ならびに変性状態におけるOmpAとSDSまたはOGとの複合体の幾何学的性状を検討するためにX線小角散乱による研究を行った。その結果，OmpAのSDS存在下での変性状態は，同界面活性剤による一般の蛋白質の変性状態と共通の性質を示すことを見いだした。そして，これらの研究を通じて評価した，OmpA-OG複合体の慣性半径と界面活性剤結合量および流体力学的半径の値から，この膜蛋白質は偏長楕円体の形状をもつことが推定された。この結果はこれまでに提案されている折れたたみに関するモデルのうち，膜を貫通するアミノ末端ドメインと親水性のカルボキシ末端ドメインの二つの領域からなるとするモデルを支持した。

さらに本研究では，SDS存在下での変性反応ならびにその変性状態からOGの添加によって立体構造が復元する反応の速度論的検討を行った。円偏光二色性ならびにトリプトファン蛍光スペクトルの経時変化の解析結果を総合することにより，この系における復元反応には3種の速度論的中間体が形成されることが示された。また，復元速度と変性速度の検討により，SDS存在下室温付近の条件では，OmpAは平衡論的には不安定であるが，変性速度がきわ

めて遅いことによる速度論的安定化によってその構造が維持されていることが示された。

論文審査の結果の要旨

本論文は，典型的な膜蛋白質である大腸菌 OmpA を用いて，OmpA と陰イオン性界面活性剤ドデシル硫酸ナトリウムおよび非イオン性界面活性剤オクチルグルコシドとの相互作用を，平衡論的および速度論的に解析し，OmpA の変性と復元機構を明らかにした。現在まで，蛋白質の立体構造形成に関する多くの研究があるが，そのほとんどは水溶性蛋白質を対象としたものであり，膜蛋白質に関する研究は少ない。本論文は，膜蛋白質の構造形成機構の解明に新たな知見を与えるものであり，博士（理学）の学位論文として，十分価値あるものと認める。