

Title	Conformations of Globular Protein-Surfactant Complexes Formed in Aqueous Solution
Author(s)	Li, Yan
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67113
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (Yan Li)	
Title	Conformations of Globular Protein-Surfactant Complexes Formed in Aqueous Solution (水溶液中で形成された球状蛋白質-界面活性剤複合体のコンフォメーション)
<p>Abstract of Thesis</p> <p>The complexation between proteins and surfactants often plays important roles in the fields of biochemistry and protein chemistry. In spite of its importance, we do not have much information about conformations of protein and surfactant complexes in aqueous solution. The aqueous solution of a protein-surfactant mixture contains the free protein, free surfactant, surfactant micelle, and protein-surfactant complex, and if the protein exists as a multimer in solution, the dissociation of the protein may be accompanied with the complexation. Furthermore, the association-dissociation equilibria among these components may be sensitive to the concentrations of the protein and surfactant in the solution. The methodology for investigating protein-surfactant complexes in such complicated solutions has not been established yet. In this thesis work, I proposed a new method for investigating the conformations of protein-surfactant complexes in aqueous solution at higher protein concentrations than usual spectroscopic and chromatographic measurements mainly by combining capillary zone electrophoresis (CZE), static and dynamic light scattering (SLS and DLS).</p> <p>In Chapter 2, I have chosen a typical β-sheet model protein, β-lactoglobulin (BLG), as a globular protein and sodium dodecyl sulfate (SDS) as an anionic surfactant to investigate the conformation of the protein-surfactant complex. First, the compositions of the free protein, complex and surfactant micelle were determined using CZE and electrophoretic light scattering (ELS). Second, the small-angle X-ray scattering (SAXS) was applied to investigate the local structure of protein-surfactant complex. Finally, the molar mass and global size of the complex were determined by SLS and DLS, respectively. In addition, circular dichroism (CD) was used to determine the secondary and tertiary structure changes of protein in the complex. I reported the above-mentioned experimental results for buffer solutions of BLG-SDS mixtures, and proposed a complexation model for protein and surfactant.</p> <p>In Chapter 3, I have switched the surfactant from SDS to a nonionic one, Triton X-100 (TX), interacted with BLG to study the conformation of the complex by the similar methods used in Chapter 2. I have examined the difference in the complexation behavior and the complex conformation between the anionic and nonionic surfactants binding to BLG in aqueous solution.</p> <p>In Chapter 4, a typical α-helix model protein, bovine serum albumin (BSA), having the molecular weight considerably higher than BLG, has been served as the globular protein to complex with SDS. Because of its larger size, the conformation of BSA in the BSA-SDS complex has been investigated in more detail than BLG. I also have studied how the difference in the secondary structure of the globular protein affects the complexation behavior by comparing the results for the BSA-SDS and BLG-SDS mixtures.</p> <p>In Chapter 5, the last combination of BSA and TX has been investigated using results obtained from CZE, SLS and DLS. A different CZE behavior of the BSA-TX mixture from the other three combinations was found, and also an unexpected result on the dissociation behavior of BSA by complexation with TX was observed.</p> <p>In sum, this thesis work presented four kinds of model for protein-surfactant complex in a considerably high protein concentration range using the new method. All results showed that protein in these four kinds of protein-surfactant complexes did not take the random coil conformation (the "necklace" model) as illustrated in the literatures, but a compact conformation at molar ratio of surfactant to protein examined. It is expected that the method shown in this thesis will be promising for reducing the spread of misunderstanding about protein-surfactant complex and further advancing our cognition as well as the application of protein-surfactant complex.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Yan Li)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	佐藤 尚弘
	副 査	教 授	後藤 祐児
	副 査	教 授	橋爪 章仁
	副 査	准教授	寺尾 憲

論文審査の結果の要旨

球状タンパク質と界面活性剤が水溶液中で複合体を形成することは古くから知られており、タンパク質の分離・精製・分子特性解析において重要な役割を演じ、また食品工業や衣服の洗濯などにも関係する現象である。しかしながら、これまでにこのタンパク質－界面活性剤複合体のコンフォメーションを直接調べた研究はほとんどない。これは、タンパク質と界面活性剤を含む水溶液中には、タンパク質－界面活性剤複合体以外に、複合体を形成していないタンパク質と界面活性剤、さらには界面活性剤のミセルが共存し、しかもそれらの組成が溶質濃度に敏感に依存するために、タンパク質－界面活性剤複合体単独の構造情報を抽出するのが難しかったためである。

本学位論文の研究では、キャピラリー電気泳動法と静的・動的光散乱法を組み合わせ、かつ同じ溶質濃度領域で測定を行い、それらの測定結果を適切な複合体形成機構モデルを用いて解析し、タンパク質－界面活性剤複合体の構造解析を行った。

測定に用いた球状タンパク質は、 β シートに富む β -ラクトグロブリン (BLG) と α ヘリックスに富むウシ血清アルブミン (BSA)、界面活性剤としては陰イオン性のドデシル硫酸ナトリウム (SDS) と非イオン性のトリトン X-100 (TX) を用い、BLG-SDS、BLG-TX、BSA-SDS、BSA-TX の4種類の組み合わせの複合体について、上記の新規実験手法を用いてその構造を調べた。

キャピラリー電気泳動から、BLG-SDS、BLG-TX、およびBSA-SDSの3種類の混合系については、ある臨界濃度以上の界面活性剤を添加すると協同的な吸着が起こり、さらに界面活性剤を添加し続けると、非協同的な吸着が継続して起こることが判明した。これに対して、BSA-TXの混合系では、非協同的な吸着のみが起こり、複合体が形成される。これらの複合体形成挙動を定量的に記述する解離－会合モデルを構築した。

その解離－会合モデルを用いて、静的光散乱の実験データを解析した。その結果、BLG-SDSとBSA-TXの複合体では、界面活性剤の吸着量が増加すると複合体中のタンパク質が二量体から単量体へ解離するが、BLG-TXとBSA-SDSの複合体で、そのような解離は起こらないことが判明した。天然状態で β シートに富むBLGはSDSと複合体を形成すると多くの β シートは α ヘリックスに構造変化し、それが二量体の解離を引き起こしたと考えられる。これに対して、BSAについては二量体を安定化していると考えられる疎水性相互作用部位にTXの疎水基が相互作用して、BSA二量体が解離したと考えられる。

さらに、動的光散乱の実験データを、同じ解離－会合モデルを用いて解析し、4種類のタンパク質－界面活性剤複合体の流体力学的半径を求めた。その結果、いずれの複合体中のタンパク質も球状構造を維持し、ランダムコイルのコンフォメーションは取っていないことが明らかとなった。すなわち、従来提案されていたタンパク質－界面活性剤複合体に対するネックレスモデルは再考が必要である。

以上述べたように、本論文ではこれまで直接的に調べられたことのなかったタンパク質－界面活性剤複合体のコンフォメーションに関する重要な知見を得ることができ、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。