

Title	DYNAMIC STRUCTURES OF MACROMOLECULES AND SUPRAMOLECULAR SYSTEMS STUDIED BY <sup>1</sup> H- <sup>31</sup> P CROSS-POLARIZATION NMR <sup>1</sup> H- <sup>31</sup> P
Author(s)	小田原, 孝行
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/963">https://hdl.handle.net/11094/963</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## 【 4 】

氏名・(本籍)	お だ はら たか ゆき 小 田 原 孝 行
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 9 0 4 1 号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日
学位授与の要件	理学研究科無機及び物理化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	DYNAMIC STRUCTURES OF MACROMOLECULES AND SUPRAMOLECULAR SYSTEMS STUDIED BY $^1\text{H}-^{31}\text{P}$ CROSS-POLARIZATION NMR $^1\text{H}-^{31}\text{P}$ 交叉分極核磁気共鳴法による生体高分子及び超分 子系の動的構造の研究
論文審査委員	(主査) 教授 京極 好正 (副査) 教授 菅 宏 教授 千原 秀昭

## 論文内容の要旨

生体物質の機能は、その構造とともに動的状態とも密接に関係していると考えられる。更に、そのままの (intact な) 生体系は、一般に、多種多様な分子種及び構造体を含んでいる。intact な系を研究する上では如何にして目的とする情報を選択的に引き出すかが重要なポイントとなる。高分解能 NMR 法を用いた intact な生体内における可溶性低分子の研究は、この十数年来著しく発展した。しかしながら、生体膜や染色体のように高次の分子集合体を形成し、運動の抑えられている成分の研究は、複雑さのために、intact な状態で研究された例が少ない。そこで、本研究では、intact な系における生体膜と巨大核酸分子の動的構造を研究することを目的とし、海洋性バクテリア *A. espejiana* とその感染フェージ PM2 を中心とする試料への  $^1\text{H}-^{31}\text{P}$  交叉分極 NMR 法の適用を試みた。

まず、intact な PM2 と *A. espejiana* の生体膜と巨大核酸分子の  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルの分離測定と帰属を試みた。その結果、交叉分極法によれば、可溶性低分子のシグナルを除くことができ、しかも、 $^1\text{H}$  と  $^{31}\text{P}$  のスピン系の熱接触時間を適切に選ぶことにより生体膜と巨大核酸分子系の  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルを分離観測できることが示された。

分離測定されたスペクトルの利点を生かし、intact な生体膜及び抽出脂質膜系について、化学シフトの異方性の温度依存性、回転座標系における  $^1\text{H}$  の縦緩和時間 ( $T_{1\rho}(\text{H})$ ) とその温度依存性を調べた。その結果、(i) いずれの膜系のリン脂質分子の相関時間も  $2 \times 10^{-6}$  s よりも短い運動領域にあるが、(ii) intact な膜系は、抽出脂質膜系よりも抑えられた動的状態にあり、(iii) intact な膜系の動的挙動は、その脂質組成をあまり反映していない。更に、(iv) intact な膜系の相の挙動、即ち、相転移温度やそれぞれの相の状態は、脂質分子のみから成る膜系とはかなり異なったものであることが示唆された。このよ

うな違いは, intactな膜系に存在する蛋白質との相互作用によってもたらされると考えられる。

更に, 蛋白質-核酸分子複合系における相互作用の様式, 或は, 核酸の存在状態とその動的構造との関係を調べるために, 蛋白質との相互作用の様式が互いに異なる巨大核酸分子 (calf thymus DNA,  $\lambda$ ,  $\lambda\Delta$ , PM2 フェージ, ニワトリ赤血球核クロマチン, *A. espejiana* のリボゾーム) の動的状態を調べた。 $T_{1\rho}$  (H) の温度依存性, 或は, 磁場依存性は, これらすべての核酸分子の相関時間が  $2 \times 10^{-6}$  s よりも長い運動領域にあることを示した。しかも, 蛋白質と直接相互作用をしていると考えられるクロマチン, リボゾーム, 次に, コアー内に折れたたまって存在しているフェージのDNA, 相互作用する相手を持たない calf thymus DNA の順に運動状態が増すという結果を得た。化学シフトの異方性の温度依存性も, この結果とよい一致を与えた。これは, 蛋白質との相互作用の強さが温度変化に対する複合系の安定性とも密接に関係していることを示唆している。

最後に, intactな *A. espejiana* について, その増殖速度とリボゾームを中心とする核酸成分の運動性との関係を調べた。その結果, 対数増殖期にある細胞内では, 核酸成分の運動性が抑えられていることが示唆された。これは, 活発に増殖している細胞内では, DNA-mRNA-リボゾームの転写-翻訳複合系という大きな集合体が形成されることによると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

水溶性の生体高分子構造と機能との関係は種々の方法で詳しく調べられているが, 生体中にはそのような高分子の集合体, また異種分子の複合体として存在し, それが機能している場合が多い。そのような系で目的とする物質の挙動を調べるには, それなりの工夫が必要となる。

小田原君は, 生体系, たとえばウイルスとか細胞とかをそのままの状態で取扱い, その中の特定の成分の挙動を調べるのに  $^1\text{H}$  と  $^{31}\text{P}$  間の交叉分極核磁気共鳴法を用いた。交叉分極法では  $^1\text{H}$  の磁化が  $^{31}\text{P}$  核に移されて  $^{31}\text{P}$  のシグナルが観測されるが, その際各スピン系の接触時間に依存してシグナルの強度が変わる。このことは, 対象とする  $^{31}\text{P}$  核を持つ物質に運動性の差があれば, 接触時間を調節することによって種々の運動性を持つりん化合物が混在している系から任意の運動性のものだけのスペクトルを抽出して描き出すことができることを意味する。小田原君はこの原理を海洋性バクテリア *A. espejiana* と, それを宿主とするウイルス PM2 に適用した。PM2 では  $^{31}\text{P}$  を保有する化合物はりん脂質とDNAしか無い。接触時間の短いところでは高分子量のDNAの, 長いところではりん脂質に由来するシグナルを取り出すことに成功した。宿主のバクテリアでも同様のことが行えて, 運動の遅い成分はリボゾームのRNAに由来し, 速い成分はやはりりん脂質由来であった。このようにシグナルの分離に成功したので, 各々の成分について詳しい解析を行った。まずりん脂質成分では生体から抽出したりん脂質のみで作ったりボゾームと, そのままの系でのりん脂質の運動性に違いのあることが, 相転移温度, および, より定量的には  $T_{1\rho}$  の測定で示された。生体系中では, りん脂質は蛋白質と相互作用しているので, そのような結果になると思われる。また, DNAについてもパウダーパターンと  $T_{1\rho}$  の測定から運動性の度合を見積った。以上の

ような結果は生物的にはどのような意義があるか調べたところ、りん脂質成分の相転移の温度と、ウィルスが宿主へ感染する効率との間に関係のあることが示された。

以上、小田原君の研究は複雑な生体系の中から、特定の物質の動的状態の違いを利用して情報を選択的に取り出すことを工夫し、実際の生体系でその有効性を示したことは、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。