



研究室紹介

蛋白質研究所—蛋白質物生部門

京 極 好 正*

蛋白質研究所は昭和33年4月に全国共同利用研究所として発足した。設立当時は3研究部門であったが、その後部門やセンターの新設拡充が行われ、現在は10研究部門、1客員研究部門、2研究センターより構成されている。当蛋白質物生部門は恒常部門としては一番新しく、昭和39年度に設立され、宮沢辰雄教授が担当した。49年宮沢教授が東京大学へ転出された後、当時溶液学部門を担当していた京極が配置換となって当部門を引継ぐこととなった。当研究所には物理化学関連部門は三つあり、一つはX線構造解析を中心とする蛋白質物理構造部門、一つは溶液中の蛋白質分子の巨視的な形態や流体力学的性質を調べる蛋白質溶液学部門があるが、本部門はそれらに対して主として分光学的な手法、特に赤外、ラマンスペクトル、高分解能核磁気共鳴を用いて、蛋白質を中心とする生体高分子の構造と物性を調べることを中心テーマとしている。

現在の研究室の研究スタッフは、京極好正(教授)、菅田宏(助手)、北川禎三(助手)、阿久津秀雄(助手)、渡辺まゆみ(教務員)であり、大学院学生は後期課程5名(内1名休学中)、前期課程2名、学部4年生2名が配属されている。それ以外に共同研究員が平均して常時1~2名はいる。研究所であるから、直接学部の教育には関係していないが、研究所成立の当初から理学部との関係は密接であり、当部門は理学部化学科の4年生を卒業研究の際受入れている。また京極は理学研究科無機および物理化学専攻の専任であり、高分子学専攻、生物化学専攻を兼任している。大学院の講義としては「分子分光学」、「生物構造化学特論」を担当し

* 京極好正 (Yoshimasa KYOGOKU), 大阪大学蛋白質研究所, 蛋白質物生部門, 教授, 理学博士, 生物構造化学

ている。

次に当部門で現在進行中の研究テーマについて述べる。

1. 生体分子の構造

(i) ヘム蛋白質, ポルフィリンの構造と共鳴ラマンスペクトル: 生体中の酸化, 還元反応には各種のヘム蛋白質が関係しているが, その活性中心は鉄に配位したポルフィリン環である。この部分は可視部の420nm辺に強い吸収を持っているが, 吸収位置に近いところで励起してラマン散乱をはかると異常に強い散乱光が観測できる。この現象を共鳴ラマン散乱というが, この方法を用いると発色団部分の振動のみ観測されて, 他の蛋白部分の振動に邪魔されないという利点がある。ヘムの中心鉄は $F_0(II)$ になったり $F_0(III)$ になったり, またそれぞれの酸化状態に対応してスピンの状態が0と2, $\frac{1}{2}$ と $\frac{3}{2}$ という場合が安定とされ, それぞれ low spin, high spin 状態という。それらの状態は, ヘム蛋白質が機能を発現する際, リガンドの状態によって変わってくるが, それに対応してヘム部分の振動数も変る。当部門では多くの種類のヘム蛋白質を各種条件下で測定して, 振動数の分類を行って, 振動数からヘム部分構造を推定できるようにした。そしていくつかのヘム部分の構造未知のヘム蛋白質に適用してその構造を明らかにすることができた。これらの研究は, 基本的な化合物であるオクタエチルポルフィリンについての基礎的な研究によってもたらされており, この化合物については ^{15}N , D置換体を含めて基準振動の計算を行い, ヘム部分の振動の全帰属を行うことができた。また従来不安定と考えられていた中間スピン ($F_0(II)$) で $S=1$, $F_0(III)$ で $S=\frac{3}{2}$ 状態のラマンスペクトルを得ることに成功している。

(ii) リン脂質二分子層膜の安定性とその要因：生体膜の力学的な安定性は生体膜を構成している物質の一つであるリン脂質の二重層膜の性質によってきまる。その安定性はまた生物の生育条件とも密接に関連しており、生物は環境に応じてリン脂質の化学組成を変えて生育に適したように調節している。当研究室では大腸菌の温度感受性変異株で、高温で生育するためには、osmotic stabilizer と称せられるグルコース、KCl やグリセリンを必要とする菌のリン脂質二重層膜の性質を調べ、osmotic stabilizer の役割を解明しようとしている。この菌を常温で培養した時と、高温で培養した時ではリン脂質組成に大差はないが、脂肪酸鎖の飽和度には大きな違いがある。高温生育菌の方が飽和脂肪酸の量が多い。そのため二重相膜がゲル相から液晶相へ転移する相転移点はずっと高くなって大体生育温度の数度下になっている。生育するためには脂質膜はゲル-液晶相の共存にあるいわゆる相分離状態にあることが、膜内酵素の相互作用を増し、また物質を透過させるために必要なのであろう。しかし相転移点が膜の安定性の指標の全部でなくて、内外の物質濃度差から受ける浸透圧に対する安定性は別の要因で定まることも明らかとなった。それは同じ高温菌でも KCl を加えて培養したものとグリセリンを加えたものは同じような脂肪酸組成を持ちながら、浸透圧に対する安定性がまるで違うことでも明らかになってきた。浸透圧に耐えるような力はわずか10%程存在するフォスファチジルグリセロール (PG) の存在によるらしい。したがってグリセロールを培地に入れたのは浸透圧に対する力学的な安定性を与えたのではなく、合成系に組み入れられて PG の生合成を助けたことによるのであろう。

(iii) 核酸塩基同志およびペプチドとの相互作用：核酸鎖の合成、またメッセンジャー RNA 上に転移 RNA が配列する時にはアデニンに対してチミン、グアニンに対してシトシンが塩基対を形成することはよく知られている。その水素結合対を作る能力が塩基自身の持つ性質であることを明らかにしてきたが、その塩基対が形成される時いわゆる Watson-Crick 形以外い

くつかの可能な構造が考えられる。これらの存在の割合を算出すれば、生合成の際の鑄型形成の間違いやすさの頻度を推定するのに有効である。そのような意図から ^{13}C NMR、プロトン NMR における飽和移動の方法によって、各種構造の平衡定数、時間的な因子を考慮した動的な挙動を調べている。核酸鎖の鑄型合成、核酸鎖上の遺伝情報が翻訳される際には種々の蛋白質によって調節が行われている。その際、どのような機構か明確ではないが、蛋白質またはペプチドのある特定の構造が、核酸塩基を認識し、そこに特異的に結合することが起こる。現在、核酸塩基との相互作用に重要とされているチロシン残基を持つ誘導体を取りあげ、どのような形で、核酸塩基と結合するか調べている。

(iv) 生理活性ペプチドの構造と活性：生体内反応の制御には数多くの生理活性ペプチドが関係している。それらの化学構造は逐次明らかにされているが、これらは化学的にかなり違っていてもかかわらず活性があったり、ごく僅かしか違わないのに活性が無かったりする。したがってこれらの違いは立体構造の相違に帰せられる部分が多いのではないかと考えられる。現在取りあげている物質としては(iii)と関連のあるトリオスチンというペプチド抗生物質で、これは二種ある立体異性体のうち片方のみが核酸と相互作用し、活性のあるものと無いものとの違いは1残基の NCH_3 ペプチド結合の trans-cis 転換によることが判明した。そのほか、ペプチドホルモンオキシトシンの誘導体や、同じく ACTH の誘導体について、活性のあるものと無いものの構造の比較を行っている。

2. 分光学的研究手段の開発

上記のような構造、活性相関を調べるのにあたって、手法として赤外・ラマン分光法、高分解能核磁気共鳴法を用いている。これらの手法を駆使するためには常道的な使い方のみでなく、常にその方法をも創意工夫を改良して用いねばならない。そのことも当部門の重要な任務である。

ラマン分光では共鳴ラマンを測定する場合が

多いが、強力なレーザー光が当たるとリガンドが解離したり、分解したりする場合があって迅速な測定を要求されることが多い。そのため従来のようにスリットから出た光を逐次波長をかえて記録する方法でなくて電子写真法ともいふべき、ビジコンカメラを用いて同時に、目的の全波長域を測定できるラマン分光器を試作している。

生体高分子の立体構造研究には紫外、可視部の発色団の円偏光二色性がしばしば測定されるが、赤外部の振動による吸収帯にも原理的には円偏光二色性は観測されるはずで、それも生体高分子の構造研究上、有力な情報を与えてくれると期待される。現在赤外部の円偏光二色性を測定できる装置を試作しようと試みているが光

が弱い領域なのでその検出には種々の苦勞があって難行している。

生体物質のような複雑な分子の核磁気共鳴では共鳴線の重りが多いから、できるだけ強力な磁場の装置を用いることが望ましい。また感度の点からも磁場が強力な方が有利である。そのような目的から超伝導磁石 NMR 装置を要求してきたが、やっと54年度に全学共同の施設として認められ、その管理部門として当部門があたることになっている。まだ購入の機種は未定であるが、従来の電磁石のプロトンで 100 MHz の共鳴周波数のものに比べて 4 倍程度の磁場の強さのものになるであろう。そうすれば、また当部門の研究も飛躍的に進展するものと期待している。

塩素法酸化チタン **タイパーク**®

硫酸法 **タイパーク** と同様安定した最高の品質が特長です。

耐候性を必要とする用途に	CR-80
一般工業用には	CR-50
印刷インキ用には	CR-58, CR-67
プラスチック着色用には	CR-60

石原産業株式会社

本社 大阪市西区江戸堀1丁目3番11号 〒550 電話 (06) 444-1451(代)
東京本社 東京都千代田区富士見2丁目10番30号 〒102 電話 (03) 230-8617~8622
名古屋支店 名古屋市中区錦1丁目17番13号 〒460 電話 (052) 231-8191(代)
福岡営業所 福岡市中央区天神1丁目12番14号 〒810 電話 (092) 751-0431(代)
四日市工場 三重県四日市市石原町1番地 〒510 電話 (0593) 45-2151(代)