

氏名	山内卓 やまうちたかし
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬博第70号
学位授与の日付	昭和45年5月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科製薬化学専攻
学位論文題目	ヒト血漿 α_1 -酸性糖タンパクの構造に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 山科郁男 教授 富田謙吉 教授 井上博之

論文内容の要旨

糖タンパクはすべての動物細胞に存在し、その構造と機能との関係は興味ある問題である。そこでまず、糖タンパクに特徴的な構造及び糖部分のタンパク部分に対する影響を明らかにすることが必要であると考へ、代表的な糖タンパクの一つであるヒト血漿 α_1 -酸性糖タンパク (α_1 -AGP) の糖鎖及びそのペプチド鎖への結合部位近辺の構造に注目して研究を行ない、同時に糖タンパクの免疫学的性質及び糖タンパクに多く見出される分子の多形に及ぼす糖鎖の影響を調べた。

α_1 -酸性糖タンパクは約40%の糖を含み、糖タンパクのモデルとして構造研究も活発に行なわれているが、糖鎖を含むペプチドの分画法や構造研究法が不十分のため、糖タンパクの特徴を示す構造、すなわち、糖の結合部位近辺のペプチド構造、ペプチド鎖中の糖鎖の分布、糖とアミノ酸の結合様式、結合する糖鎖の数、大きさや構造に関する知見を得ることが困難であった。また、糖部分の免疫学的性質を検討する場合に α_1 -酸性糖タンパクは抗原性が低く正常な抗原抗体反応を示さないことから生物学的意義を明らかにすることが困難であった。さらに α_1 -酸性糖タンパクは糖タンパクに多く見出される分子の多形を示し、その原因として糖部分に関与することが推定されていた。著者はヒト血漿 α_1 -酸性糖タンパクを用いてこれらの問題点の解明を試み、その結果次のことが明らかになった。

1. α_1 -酸性糖タンパクをタンパク分解酵素、プロナーゼによってくり返し消化し、ゲル濾過により糖ペプチド画分を得たのち、DEAE--セルロースカラム、デンブリン粒電気泳動によって分画、精製して均一な7種の糖ペプチドを高収量で単離した。

2. 各糖ペプチドのアミノ酸配列を酵素的化学的方法によって以上のように決定した。糖はいずれもアスパラギン酸に結合し、ペプチド構造としてAsp-Lys, Thr-Asp, Asp-Thrの三つの型に分類されることが分った。

Gp-I -Asp-Lys-

Gp-II Thr-Pro-Asp-Lys-

Gp-III	-Asp-Lys-
Gp-IVa	-Thr-Asp-Lys-
Gp-IVb	-Thr-Asp-
Gp-V	-Asp-Thr-(Ser, Ala)-Gly-
Gp-VI	Gln-(Ser)-Asp-Thr-(Gly)-

糖とアミノ酸の結合様式を決定するに当って β -アスパラチルグリコシラミンアミダーゼ(“アミダーゼ”)を用いることが極めて有効であることを示した。

3. ガスクロマトによる中性糖成分の分析法を α_1 -酸性糖タンパク及び糖ペプチドに適用し、糖鎖の微細構造に対する知見を得た。すなわち、すべての糖ペプチドはシアル酸、グルコサミン、中性糖を含む。Gp-O, Gp-Iはフコースを含まないが、他の糖ペプチドはすべてフコース、マンノース、ガラクトースを含み、その相対含量は糖ペプチドごとに異っていた。

4. α_1 -酸性糖タンパクはウサギに対し抗体を生成するが、抗体過剰領域での抗原の沈降性は0~80%まで広がる。この沈降反応上清には遊離の α_1 -酸性糖タンパクは存在せず、常に可溶性抗原抗体結合物として存在し、それらを電気泳動、ゲル濾過により単離した。

5. α_1 -酸性糖タンパクを高濃度尿素存在下でDEAE-セルロースカラムクロマトを行ない、多形成分のいくつかを大量に分離した。各成分の糖及びアミノ酸組成の詳細な分析、ペプチド構造の比較、プロナーゼ消化によって得た糖ペプチドの構造研究から、 α_1 -酸性糖タンパクは単一なポリペプチド鎖をもちながらペプチド鎖に結合する糖鎖の数及び結合部位の差異によって多形を示すことを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

共有結合によって糖を含有するタンパク、すなわち糖タンパクは生物界に広く存在することが知られ、最近では種々の生物活性との関連のもとに注目を浴びている物質である。しかし、糖タンパクの基本的な性質、とくに糖と結合するアミノ酸の周辺のペプチド構造、ペプチド鎖における糖鎖の分布、糖タンパク分子全体の物理化学的、免疫化学的性質に及ぼす糖部分の影響などに関しては知見は極めて乏しい。

本論文は糖タンパクとして代表的なヒト血漿の α_1 -酸性糖タンパク(α_1 -AGP)を用いて上述の基本的諸問題を扱い、種々の極めて有用な知見をもたらしたものである。

まず、 α_1 -AGPをタンパク分解酵素によって分解したのち分画して7種の糖ペプチドを得、それぞれについて糖部分の組成を決定するとともに糖と結合するアミノ酸がすべてアスパラギン酸であること、またこのアミノ酸の近傍にはリジン、トレオニンが高頻度に存在することを明らかにした。次に、 α_1 -AGPが一般に均一といわれながらもデンブゲル電気泳動において数本のバンドを示す、いわゆる多形であることに注目し、多形成分のいくつかをイオン交換クロマトグラフィーによって単離することに成功した。各成分について詳細な化学的研究を行つた結果、多形は同一ペプチド鎖に結合する糖鎖の種類および結合位置の多様さによることを明らかにした。

さらに、 α_1 -AGPの物理化学的、免疫化学的性質について検討し、糖成分のうちシアル酸は分子の表面に位置して、粘度の増大に寄与しているが、ペプチド鎖の高次構造や免疫化学的性質には寄与していない

いことを明らかにした。

以上、本論文は糖タンパクの一次構造についての一種の規則性、糖タンパク一般に見られる多形の原因、その他糖タンパクに関する主要な諸性質を明らかにしたものであって糖タンパクに関する基礎的知識の増大に寄与するところ大である。

よつて、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。