

氏 名	河 端 信 かわ ばた まこと
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 70 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 39 年 12 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Biochemical Studies on Ovomuroid from Hen's Egg (鶏卵オボムコイドの生化学的研究)
論 文 調 査 委 員	(主 査) 教 授 小 野 寺 幸 之 進 教 授 満 田 久 輝 教 授 緒 方 浩 一

論 文 内 容 の 要 旨

卵白中の ovomucoid は古くからの研究にもかかわらず単一に純化されたものはなかった。この研究ではまず ovomucoid を硫酸で分別した後、DEAE-セルロースを用いて精製し、ついで CM-セルロースカラムを用いて段階的溶離をくり返し、ovomucoid を4画分にわけ、component I, II, III および IV をえた。

これらの区分について p-toluenesulfonyl-L-argininemethyl ester を基質として trypsin 活性に対する阻害作用をしらべたところ、I, II は阻害力を示した。なお失活の条件を明らかにした。

従来卵白中の conalbumin と結合すると考えられていた flavin は component III および IV と特異的に結合して flavoprotein を形成していることを明らかにし、それぞれ flavomuroid K₁ および K₂ と名付けた。タンパク質の分子量を 28,000 としたとき flavin との結合は等モル比で、比較的安定な結合をし、その至適 pH は 7.0 付近で、加熱によって flavin 結合能を失う。

Ovomucoid の4画分はすべて炭水化物を含有していて、中性糖として D-マンノースと D-ガラクトースをほぼ 4:1 の割合で含む。またアミノ糖としては D-グルコサミンをもち、I では 17%, II で 15%, III で 11%, IV で 5% の含量である。また各画分はシアル酸を含有していて、I : 1.6%, II : 1.4%, III : 0.8%, IV : 0.4% の含量である。この含量は4画分の CM-セルロースカラムからの溶出順位に対応するので、シアル酸が ovomucoid の電気的性質と関連をもつことが推定される。

精製 ovomucoid をパパインで分解し、生成物を分画すると glycopeptide として2画分 (G_p-1, G_p-2) がえられた。糖およびシアル酸の定量結果にもとづいて、これらはそれぞれ ovomucoid の trypsin inhibitor および flavomuroid 画分に由来するものと考えられた。ついで component I, II, III, IV をそれぞれブロナーゼで分解し、4種の glycopeptide (G_p I, II, III, IV) をえた。これらの glycopeptide の中性糖の含量は各画分間に大差はみられないが、アミノ糖およびシアル酸含量は G_p I, II に多く、G_p III, IV では前二者の約 $\frac{1}{2}$ であった。

また ovomucoid の moving boundary electrophoresis は電氣的に不均一性を示し、ろ紙電気泳動は負電荷が component I, II, III, IV の順で小さくなることを示した。さらに脱シアル酸処理の I, II, III, IV は同一の易動度を示す。これらの結果は ovomucoid の net charge にシアル酸の -COOH 基が関与することを示すものである。

なお、鶏卵ふ化過程において ovomucoid はふ化の進行とともに卵白中での濃度を増大し、trypsin 阻害活度も増大する。Flavomucoid はふ化の最終段階まで残存する。さらに他の組成タンパク質のふ化過程中的消長を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

Ovomucoid は卵白タンパクの構成成分で、熱凝固しないことと、trypsin に対する阻害力をもつという特性をもち、生化学的に興味ある物質である。このタンパク質はかなり高い含量で糖を含有しているが、いままでに精製された標品は均一性について疑問の点が多かった。

この論文ではこの点を検討するため、まず分画の方法を改良し、タンパク質の変性を最少限におさえて ovomucoid を精製し、4 画分 (I, II, III, IV) に分画することに成功して従来の疑点を解明したことは高く評価される。

これらの 4 画分について生化学的検討を加えて I, II が trypsin inhibitor であり、III, IV は flavoprotein を形成することを証明し、ovomucoid が機能的に異なる構成成分から成立することを明らかにした。ついでこれら画分の糖およびシアル酸の含有量を定量してシアル酸が 4 画分の電氣的性質に関与することを推定した。

そこでさらに ovomucoid のペプチド主鎖に関連しての糖およびシアル酸の様相をしらべるため精製 ovomucoid および 4 画分を酵素分解し、えられた glycopeptide の糖およびシアル酸の含量と構成アミノ酸を決定した。一方、電気泳動の性質を詳細にしらべてシアル酸が ovomucoid の 4 画分の易動度と関連をもつことを証明し、シアル酸が ovomucoid の net charge に影響することを明らかにした意義は大きい。

さらに鶏卵ふ化過程における ovomucoid の trypsin inhibitor 画分および flavomucoid 画分の消長、その他の組成タンパク質の変動を明らかにして、ふ化過程における卵白タンパクの役割について重要な知見をえている。

以上のようにこの論文は生化学とくにタンパク質化学および食品化学に貢献するところきわめて大きい。

よって本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。