

氏名(本籍)	えだ まつ まさ き 枝 松 正 樹 (神奈川県)
学位の種類	博 士 (理 学)
学位記番号	博 甲 第 1080 号
学位授与年月日	平成 5 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Studies on the <i>Tetrahymena</i> Profilin (テトラヒメナプロフィリンに関する研究)
主 査	筑波大学教授 理学博士 渡 邊 良 雄
副 査	筑波大学教授 理学博士 平 林 民 雄
副 査	筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌
副 査	筑波大学助教授 理学博士 沼 田 治

論 文 の 要 旨

細胞分裂や原形質流動をはじめとする生命活動にはアクチン細胞骨格系が中心的役割を演ずるものが多く、アクチンやその生理機能を調節するアクチン結合蛋白質の相互作用の解明が分子生物学の最重要な課題の一つになっている。一方、繊毛虫テトラヒメナは細胞分裂の研究材料として優れた利点を持っているが、そこから精製されたアクチンは一般のアクチンと可成り違った性質を示すことから、テトラヒメナのアクチン結合蛋白質の性状の解析も着目される課題であった。また、テトラヒメナではアクチンは一般の細胞と同様な役割を持つことが示唆されているのに、細胞内含量が2桁近く低く、そのため分裂などの細胞周期の現象に応じて発現し、アクチンの細胞内プールを維持するとされるプロフィリンのようなアクチン結合蛋白質は存在しないかもしれない可能性が考えられていた。

筆者は、これらのことを考慮して、テトラヒメナからのプロフィリンの同定と単離を試み、テトラヒメナのアクチン結合蛋白質として初めてプロフィリンの精製を成功させた。第1章では、テトラヒメナプロフィリンの単離とその特異的性状について、第2章では、プロフィリン遺伝子のクローニングからの機能ドメインの推定を行い、第3章では、細胞質分裂と関連したプロフィリンのこれ迄知られていなかった新しい機能について、その成果が述べられている。以下に新知見を列挙する。

(1) テトラヒメナホモジェネートから、ポリプロリン親和カラムやイオン交換カラムクロマトグラフィー等によりプロフィリンの単離に成功した。この蛋白質は既知のプロフィリンと同様にアクチンの重合阻害活性を持つことが比粘度測定や共沈実験から示された。また、このプロフィリンは

ウサギ骨格筋アクチンよりテトラヒメナアクチンの重合をより強く阻害する特異性があることが示された。

(2) テトラヒメナプロフィリンの性状を知るため、プロフィリンの一部のペプチド断片のアミノ酸配列を決定し、これに対応するオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとしてテトラヒメナのcDNAのライブラリーから遺伝子をクローニングし、塩基配列を決めた。これからテトラヒメナプロフィリンは16,785Da, サザン及びノーザンハイブリダイゼーションの結果からプロフィリン遺伝子は一種類で発現に転写されていることが示された。テトラヒメナプロフィリンのアミノ酸配列を他の生物の既知のものとの配列と比較したところ、N末端とC末端により高い共通配列があることがわかり、両末端領域にプロフィリンに共通の性質に関与する配列があることを示唆した。

(3) テトラヒメナプロフィリンの機能を知るため、特異抗体を調製し、蛍光抗体法で局在をしらべたところ、分裂間期の細胞では細胞質に一樣に蛍光がみられアクチンプールの維持に関与すると考えられる像が得られた。しかし、分裂細胞ではアクチン微小繊維が存在する分裂溝に強い蛍光がみられるという興味深い結果が得られ、プロフィリンが細胞質分裂に関係することを示した最初の成果となった。アクチン及びプロフィリンの抗体を用いた二重蛍光抗体法から、分裂溝におけるアクチン繊維とプロフィリンとは局在部位も出現時期も極めてよく一致していることが判った。プロフィリンはG-アクチンとは1:1結合するがF-アクチンとは全く結合しないことを共沈実験で明らかにしたので、プロフィリンの分裂溝への局在はF-アクチン以外の細胞骨格成分と相互作用しているものと考えられる。

これらのことから、テトラヒメナプロフィリンは、単にG-アクチンプールの維持に関与するばかりでなく、細胞質分裂機構に係る要因として収縮環アクチン繊維の形成や消失に関与する機能をもつものと考えられる。

審 査 の 要 旨

本論文は、テトラヒメナのアクチン結合蛋白質として初めてプロフィリンの単離に成功したものである。その重合阻害活性は種特異性が高いことが示され、このことからクローン化された遺伝子の塩基配列上でプロフィリンに共通な機能ドメインを推定できた。また、本研究では、プロフィリンが単に細胞内のアクチンプールの維持に機能するばかりでなく、細胞分裂における分裂溝に存在する収縮環アクチン繊維の形成や消失の機構に関与することを示した。これはプロフィリンの新しい機能に関する発見であり、極めて意義ある業績として評価される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。