

|         |                                                                                                                 |      |      |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| 氏名(本籍)  | 小 <sup>こ</sup> 島 <sup>じま</sup> 弘 <sup>ひろ</sup> 子 <sup>こ</sup> (東京都)                                             |      |      |
| 学位の種類   | 博士(理学)                                                                                                          |      |      |
| 学位記番号   | 博甲第1,796号                                                                                                       |      |      |
| 学位授与年月日 | 平成10年3月23日                                                                                                      |      |      |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4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 Multifunctional Mechanism of <i>Tetrahymena</i> Citrate Synthase<br>(テトラヒメナのクエン酸合成酵素の多機能性に関する研究) |      |      |
| 主査      | 筑波大学教授                                                                                                          | 理学博士 | 平林民雄 |
| 副査      | 筑波大学教授                                                                                                          | 理学博士 | 小熊讓  |
| 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  |

## 論文の内容の要旨

繊毛虫テトラヒメナの14-nm 繊維蛋白質はミトコンドリアに移行したものはクエン酸合成酵素として機能し、細胞質に留まったものは14-nm 繊維蛋白質として機能していると考えられている。

本論文において、著者はミトコンドリアから酵素活性を指標として精製したクエン酸合成酵素と重合・脱重合によって精製した14-nm 繊維蛋白質を詳細に比較検討し、両者の類似点と相違点を明らかにした。その結果、一つの遺伝子にコードされた蛋白質が細胞内でその局在を異にし、それぞれの局在ごとに異なる機能を獲得するメカニズムが翻訳後の修飾によって制御されていることを示した。

第一章ではテトラヒメナのミトコンドリアから精製したクエン酸合成酵素と重合・脱重合により精製した14-nm 繊維蛋白質の性状を比較検討した。その結果、両者の分子量、抗原性、クエン酸合成酵素活性の至適条件などが一致することを明らかにした。

第二章では二次元電気泳動法を用いて、クエン酸合成酵素と14-nm 繊維蛋白質を詳細に比較し、クエン酸合成酵素には pI 7.7 と pI 8.0 の二つの isoforms が存在すること、14-nm 繊維蛋白質にはこれらに加えて pI 8.4 の isoform が存在することを明らかにした。さらに両者に共通な isoforms には酵素活性があるが、14-nm 繊維蛋白質に特異的な pI 8.4 の isoform には酵素活性がないことを見いだした。以上のことより pI 8.4 の isoform の存在が細胞質に留まることや繊維を形成することに重要であることを示した。

第三章ではクエン酸合成酵素と14-nm 繊維蛋白質が遺伝子レベル、mRNA レベルで同一であることから、両者の isoforms の多様性は翻訳後の修飾によることを考え、その実態を調べた。その結果、pI 8.0 の isoform が特に強くリン酸化されていること、pI 8.0 と pI 8.4 の isoforms のトリプシン消化断片の質量分析を行ったところ両者の間で質量の異なる断片が存在することなどが判った。以上のことと14-nm 繊維蛋白質のアミノ酸配列から推定された等電点が pI 7.6 であることから、pI 7.7 の isoform からリン酸化によって pI 8.0 の isoform が生じ、さらに糖鎖に付加などで pI 8.4 の isoform が生じたものと結論した。

## 審査の結果の要旨

本研究はテトラヒメナの14-nm 繊維蛋白質が一つの遺伝子にコードされ、一つの mRNA から翻訳されている

にもかかわらず、その局在が細胞質とミトコンドリアに分かれ、局在ごとに異なる機能を獲得するメカニズムを追求したものである。著者は14-nm 繊維蛋白質とクエン酸合成酵素の性質を詳細に検討し、両者を構成する isoforms に明確な違いがあることを見いだした。さらに、等電点電気泳動でしか分離できない isoforms のクエン酸合成酵素活性を測定するため、未変成状態で isoforms を分離する電気泳動法を開発した。その結果、酵素活性を持つ isoforms と持たない isoform が存在すること、活性を持たない isoform は14-nm 繊維蛋白質にのみ存在することを発見した。著者はこの14-nm 繊維蛋白質にのみ存在する isoform が細胞質に留まることや繊維形成を行うことの鍵をにぎるものと考えた。さらに、これらの isoforms の多様性の原因が翻訳後の修飾によるリン酸化が重要な要因であることを明らかにした。

近年、多機能蛋白質の報告は年々増加しているが、それらの多機能性の原因としては、良く似た遺伝子が二つある場合、Alternative splicing による場合、翻訳開始部位が二つ以上ある場合などが知られている。しかし、著者が見いだした「一つの蛋白質から翻訳後の修飾によって局在性や機能が全く違う二つの蛋白質が生じる。」という例はほとんど知られていない。この現象がテトラヒメナのみのものであるかどうかは今後の研究を待たなければならないが、著者の発見は多機能蛋白質の研究に新たな展開を与え、かつ蛋白質の進化の研究にも新たな情報を与えた。このような優れた成果をあげた本研究は高く評価されるものである。

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。