

氏 名(本 籍) ^{ひろ}廣 ^の野 ^{まさ}雅 ^{ふみ}文 (東京都)

学 位 の 種 類 理 学 博 士

学 位 記 番 号 博 甲 第 494 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 62 年 10 月 31 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 学 研 究 科

学 位 論 文 題 目 **Stdies on the Tetrahymena Actin**
(テトラヒメナ・アクチンに関する研究)

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 理学博士 藤 伊 正

副 査 筑波大学助教授 理学博士 高 橋 三 保 子

論 文 の 要 旨

アクチンは生物学的に最重要な蛋白質の一つで真核生物に広く存在している。しかし、高等動物細胞の分裂機構解析のモデルとして広範な研究がなされてきた織毛虫テトラヒメナでは長年の研究にも拘らずアクチンの実存が証明されていなかった。

著者は、「テトラヒメナにアクチンが存在するとすれば、それは遍在するアクチンと幾つかの性質が異なる持ちなものであろう」と推察し、その様なアクチンが得られれば、これ迄解析が進んでいないアクチンの分子内構造と機能の関連やアクチンの分子進化やアクチンの細胞分裂機構における役割等を解析する手がかりが得られると考え本研究に着手した。

著者はテトラヒメナ・アクチンを遺伝子の面から解析し、その存在を初めて実証することができ、しかも当初著者が予測した様な持ちなアクチンであることを証明した。以下に実験結果より得られた新しい知見を列挙する。

1. テトラヒメナの genomic DNA 中に細胞性粘菌アクチン遺伝子と hybridization する 1 種類の遺伝子配列が存在することを発見し、これを遺伝子組換え技術を用いて λ Charon 4 A フェージに、さらにプラスミド pAG60 に clonin することに成功し、フェージ M13 を用いた dideoxy 法で全遺伝子の塩基配列を決定した。

2. この配列には intron がなく、推定されるアクチンは他のアクチンと同様に 375 個のアミノ酸からなり分子量は 41,906 と計算された。また、アミノ酸の 253 残基目の TAG codon は他の生物では終止 codon はであるが、テトラヒメナではグルタミンを code することが判った。

3. テトラヒメナに1種類であるこのアクチン遺伝子は13Sの poly(A)⁺mRNA として活発に転写されていることを Northern hybridizaion の解析から明らかにした。

4. テトラヒメナ・アクチン遺伝子の遺伝子産物を同定するため、遺伝子の塩基配列から推定されるアミノ酸配列のN末15残基に相当する配列を固相法で人工合成し、精製後、このペプチドに特異的な抗血清を調製し、immunoblot 法で遺伝子産物の固定を行った。その結果、産物はみかけの分子量43.5K, 等電点5.4であることが判り、遍在するアクチン(分子量42K, 等電点5.2)とは明らかに異っていた。この様な違いはこれ迄のアクチンでは全く知られていないものだった。

5. テトラヒメナ・アクチンのアミノ酸配列をこれ迄に知られている多くのアクチンのものと比較したところ、homology がどのアクチン間の値より極度に低く(75%), アクチンの一次構造の可変部のみならず定常部にも多くの置換があることが判った。また、アミノ酸配列全体の親水性値の比較からも特有な性状を持つことが示唆された。

6. 一次構造で高い homology を持ちながら機能を異にする蛋白質の例が知られているので、テトラヒメナ・アクチン遺伝子産物が他のアクチンと同様な生物学的機能を持つか否かを抗血清を用いた蛍光抗体法で調べた。その結果、通常のアクチンと同様に、分裂溝の収縮環やストレスによって誘起される核内繊維束や細胞運動に係る細胞小器官にテトラヒメナ・アクチンの局在が認められた。従って、テトラヒメナには分子性状は極めて特有だが生物学的機能は遍在するアクチンと同様なアクチンが存在することを明示した。

審 査 の 要 旨

著者は、本研究において、テトラヒメナ・アクチン遺伝子を cloning し、その塩基配列を決定し、さらにその遺伝子産物を同定することに成功した。このことにより、テトラヒメナにも他の真核生物と同様にアクチンが存在することを実証し、長年の論争に終止符を打つことができた。しかも、テトラヒメナ・アクチンは極めて特異なアクチンであることを幾つかの解析方法から明らかにした。また、テトラヒメナ・アクチンはユニークな一次構造を持つにも拘らず細胞内での基本的役割は他の細胞のアクチンと同様であることも示した。この様な例外的なアクチンは今まで全く報告されておらず、これを更に研究することによって、アクチンが示す多くの機能とそれらに対応する分子上の構造領域との相関を明確にすることが可能となる。著者の業績は、それ故に国際的に大きな注目を浴びており、細胞運動に関する分子生物学の発展に多大な貢献をもたらすものとして高く評価される。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。