

氏名(本籍)	かとう	りょう	いち	(福島県)
	加藤	良	一	
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	博	乙	第	227号
学位授与年月日	昭和60年1月31日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
審査研究科	生物科学研究科			
学位論文題目	Characteristics of protein kinases in <u>Lemna paucicostata</u> Hegelm. (アオウキクサに含まれるプロテインキナーゼの特性)			
主査	筑波大学教授	理学博士	原	田 宏
副査	筑波大学教授	理学博士	鈴	木 恕
副査	筑波大学教授	理学博士	柳	澤 嘉一郎
副査	筑波大学助教授	理学博士	藤	伊 正

論 文 の 要 旨

タンパク質のリン酸化反応は、タンパク質の機能発現、ひいては細胞機能の調節機構に深く関わる反応であるにもかかわらず、植物材料を用いて、タンパク質のリン酸化と生理反応との相関を取り扱った研究は皆無に等しい。

本研究はアオウキクサを用いて、タンパク質のリン酸化反応をつかさどるプロテインキナーゼを抽出・分離し、特性の検討を行うと同時に、花芽形成時における活性の変動を調べ、その生理的役割について論じたものであり、4章から成る。

1) 第一章では、可溶性画分に cyclic AMP (c-AMP) 依存型のプロテインキナーゼが存在することを明らかにしている。in vitro でのタンパク質のリン酸化を調べ、c-AMP の添加により数種のタンパク質のリン酸化が著るしく促進される事実をふまえ、 $[^3\text{H}]-8\text{-N}_3\text{-c-AMP}$ による photoaffinity 法を用いて、分子量 85k の c-AMP 結合プロテインキナーゼの存在を確認している。また、可溶性画分にはこのほかにも 165 k と 145 k のプロテインキナーゼが存在し、前者は c-AMP によりその活性が阻害され、後者は c-AMP と無関係にリン酸化反応を行うことも示している。

2) 第二章では、分離した3種の可溶性プロテインキナーゼのそれぞれにつき、pH 依存性、金属要求性、植物ホルモン(サイトカイニン)の影響などを調べ、特性についての検討を試みている。また 85k の c-AMP 依存型のプロテインキナーゼは、c-AMP を処理してもその分子量に変化はなく、動物でよく知られているプロテインキナーゼとは異なり、c-AMP により調節 subunit と触媒 subunit とに解離しない性質のものであり、2量体として存在することを示唆している。

3) 第三章では、膜結合性プロテインキナーゼの抽出・分離・分子量の決定、pH 依存性、金属要求性などを調べ、その特性を明らかにしている。蔗糖連続密度勾配遠心法と Mg^{2+} shift 法を組み合わせ、このプロテインキナーゼが小胞体膜に結合していることを示し、活性に対する至適 pH は 9.0~9.5、 Mg^{2+} 、 CO^{2+} 、 Mg^{2+} によりその活性が著しく促進され、cyclic nucleotides による影響はないことなどを明らかにしている。

また、*in vitro* でのタンパク質のリン酸化反応により、このプロテインキナーゼによりリン酸化される10数種の基質タンパク質も、小胞体膜に存在し、基質特異性も少ないことを示唆している。

4) 第四章では、花芽形成誘導条件下、非誘導条件下においた植物体の各生育段階での上記4種のプロテインキナーゼの活性変動、基質タンパク質のリン酸化の相違を比較検討している。

花芽形成誘導条件下では、可溶性画分に存在する 85k,145k のプロテインキナーゼの活性が花芽形成に先だち著しく増加することを示し、花芽形成反応にこれらプロテインキナーゼの活性増大、ひいては基質タンパク質のリン酸化が重要な役割を担っていることを論議している。

審 査 の 要 旨

合成されたタンパク質の多くが、細胞内においてその機能を発現するために、種々の修飾を受ける事は知られている。タンパク質のリン酸化反応はその一例であるが、植物においては、細胞機能の調節機構との関係については全く明らかにされていない。本研究で、植物材料を用いては初めて c-AMP 依存プロテインキナーゼを検出し、さらに小胞体に存在するプロテインキナーゼを検出した事は、今後のタンパク質の機能発現、生理反応の解析に大いに寄与するものとして高く評価される。

また、花芽形成反応との相関を論議した本研究のもくろみは、植物の形態形成反応をタンパク質の機能発現の面から追跡する可能性を示唆したものとして、植物生理学の発展に大きく寄与するものと思われる。

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みとめる。