

氏名(本籍)	あ く つ さ と な り 阿久津 覚 誠 (千 葉 県)
学位の種類	博 士 (理 学)
学位記番号	博 甲 第 2781 号
学位授与年月日	平成 14 年 3 月 25 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	Biochemical Analyses of a Nonmuscle Tropomyosin-Binding Protein (非筋肉組織のトロポミオシン結合蛋白質の生化学的解析)
主査	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 酒 井 慎 吾
副査	筑波大学教授 理学博士 沼 田 治
副査	筑波大学教授 理学博士 林 純 一

論 文 の 内 容 の 要 旨

細胞骨格のマイクロフィラメントはアクチンを主成分とし、非筋肉組織において細胞運動、細胞質分裂、分泌、オルガネラや細胞内小胞の移動・分布などの重要な役割を担っている。アクチンフィラメントの構造を安定化させるトロポミオシンは、非筋肉組織では多くのアイソフォームが発現しており、アイソフォーム毎に個別の役割があるのではないかと考えられているが、その役割はいまだ明らかにされていない。本研究では、非筋肉組織でトロポミオシン結合蛋白質を探索し、それとトロポミオシンとの相互作用を調べることにより、非筋肉組織におけるアクチンフィラメントの新たな役割を解明した。

ニワトリ肝臓よりトロポミオシンを単離・精製し、これをリガンドとしたアフィニティーカラムを用いて、ニワトリ肝臓抽出物中のトロポミオシン結合蛋白質を探索した。その結果、57kDaの蛋白質を見つけ、この蛋白質の部分アミノ酸配列を決定したところ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GDH) であることが判明した。次に、トロポミオシンとGDHの相互作用を調べるため、GDHをニワトリ肝臓から単離・精製し、アフィニティーカラムクロマトグラフィーを行い、GDHが他の蛋白質の介在なしに、トロポミオシンと直接結合することを証明した。さらに、ATP存在下ではGDHがトロポミオシンに結合しないことを見つけ、この相互作用はATPによる調節を受けることを示した。また共沈殿実験によりGDHは特にトロポミオシン存在下でアクチンフィラメントと結合することが分かったことから、GDHはアクチン系細胞骨格と相互作用すると考えられた。

ニワトリ肝臓に複数のGDHアイソフォームが存在するのか、存在するとすれば、個々のアイソフォームにより相互作用が異なるか否か明らかにするために、ニワトリGDH cDNAの構造解析を行ったところ、単一の塩基配列が得られたことから、ニワトリ肝臓ではGDHアイソフォームが存在しないと考えられた。

トロポミオシンとGDHのニワトリ肝臓内における局在を調べるため、それぞれの抗体を用いて免疫染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した結果、トロポミオシンは主に、肝組織内の血管内壁や、類洞と呼ばれる毛細血管様構造の周辺部、胆管細胞の外周に局在すること、また肝実質細胞の細胞質中に斑点状に分布することが明らかとなった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は大方の細胞運動研究者の予想に反して、代謝系においてのみ機能していると考えられていたGDHが、

非筋肉組織のトロポミオシンと相互作用すること、アクチン繊維に結合したトロポミオシンを足場にして、酵素活性を局所的に発揮している可能性があることを明らかにした。この結果、GDHはトロポミオシンやアクチンと複合体を形成して、オルガネラや細胞内小胞の移動や分布などの複雑な細胞活動に寄与していると考えられた。

本研究は細胞運動の制御機構の解明に新しい視点を切り開いたのみならず、細胞運動と物質代謝に接点があることを明らかにした優れた研究であると評価できる。

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。