

氏名(本籍)	桐木雅史(鹿児島県)		
学位の種類	博士(学術)		
学位記番号	博甲第1,207号		
学位授与年月日	平成6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	Analysis of skeletal muscle specific nuclear proteins (骨格筋特異的核タンパク質の探索)		
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	岡田益吉
副査	筑波大学教授	理学博士	山根国男
副査	筑波大学教授	理学博士	斎藤建彦

論文の要旨

遺伝子発現の初期過程は細胞核で行われ、クロマチンや核マトリックスなどの核内構造が重要な役割を果たしていると考えられている。この核内構造の構成タンパク質には組織差が見られ、組織特異的な遺伝子発現調節への関与が研究され始めている。骨格筋細胞は細胞分化のモデルとして古くから用いられ、特に近年では MyoD の発見を契機として転写制御因子の解析を中心とした研究が精力的に進められている。本研究では細胞分化を理解するためには転写制御因子の解析と併せて、初期の遺伝子発現の場である核の組織差の検討が必要であると考え、まず骨格筋組織から単離した細胞核のタンパク質成分を2次元電気泳動パターン上で他組織の細胞核のタンパク質成分と比較し、さらに組織特異的な分布を示す核タンパク質に着目して細胞分化との関係を研究した。

先ずふ化後1日のニワトリの大胸筋からかなり純度の高い細胞核の単離を工夫し、これに成功した。得られた核分画のタンパク質成分の比較実験には、histone 以外のほとんどの成分を分析できる2次元電気泳動法を用いた。クーマジー染色による骨格筋核タンパク質成分の2次元電気泳動パターン上のスポットのうち、細胞質性のタンパク質と共通と思われるスポットを除く107個のスポットについて肝臓核分画のパターンと比較した結果、18個のスポットが筋肉核分画のパターンにのみ見られた。

次に微量タンパク質の検出を目的として骨格筋核を抗原として調製した抗血清による免疫染色パターンを骨格筋核分画と肝臓核分画とで比較し、5個のスポットが骨格筋特異的と判断された。

さらに微量タンパク質の検出に加えて、進化的に保存された抗原性を持つタンパク質を選択的にとりあげる目的で、ニワトリとは系統的に離れた種の筋組織から単離した核を抗原として得た抗血清による免疫染色パターンで比較を行い、17個の骨格筋特異的スポットを見いだした。

2次元パターンと比較により肝臓に対して骨格筋特異的な核タンパク質であると推定されたこれらのスポットのうち、2種類のタンパク質（55k タンパク質，108k タンパク質）に着目して、アミノ酸分析，組織分布，発生に伴う変化など解析をすすめた。55k タンパク質は，calsequestrin であることが分かったが核への局在性と calsequestrin に関するこれまでの報告に矛盾が生じ calsequestrin 以外の成分を捕らえている可能性が残された。108k タンパク質に関してはアミノ酸配列のホモロジー検索から未知の成分であり，その量が発生段階特異的に増減を示す興味深い成分であることが判明した。

審 査 の 要 旨

本研究は単離困難な骨格筋から細胞核を調製することに成功し，さらにその核のタンパク質成分を最も効率良く分析できる系を選択し，全核タンパク質成分の比較を丹念に行ったものである。その中から2種のタンパク質成分を取り出しその同定と局在の確認を行った。核タンパク質の成分には微量で重要なものがあり，ここで確立した分析方法は筋肉細胞のみならず，他の組織の細胞核の分析にも大いに役立つと考えられる。本研究の成果は筋肉細胞の分化の研究に有益なものであり，更に詳しい核タンパク質の研究への基礎となるものと言えよう。

よって，著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。