

氏 名	大 橋 一 世 おお はし かず よ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 567 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学位論文題目	骨 格 筋 の Z 膜 に 存 在 す る 新 し い 調 節 蛋 白 質 の 研 究
論文調査委員	(主 査) 教 授 岡 田 節 人 教 授 柳 田 充 弘 教 授 大 井 龍 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

ニワトリの骨格筋を0.6MKI溶液で得られた上清中に、ミオシンやアクチンなどと全く性質を異にした蛋白質が存在している。この蛋白質はミオシンやアクチンをすでに抽出し終った残さ中に見つかる。残さのKI抽出液を1mM NaHCO<sub>3</sub>に対して透析し、20-40%の飽和硫酸分画中DEAE-セルロース、カラムクロマトグラフィーを用いて、この蛋白質の分子量は約55,000である。

紫外線吸収曲線を求めると、278nmにピークをもった典型的な蛋白質の性状を示す。吸光係数はおよそ $E_{1cm}^{1\%} = 4.2$ である。アミノ酸組成を調べると、ロイシン残基のかなり多いことが特徴的である。また、吸光係数を考慮に入れて考察すると、トリプトファンが殆んどないらしいことも特徴的である。

SDS ポリアクリルアミド電気泳動によって調べると3本の、8.5M尿素を含ませて電気泳動を行なうと4本のバンドが分離してくる。これらは、いずれも等電点がpH6.0~6.5の間にある。

精製した蛋白質をウサギに注射して抗血清を得ることができる。この抗血清と蛋白質とを寒天ゲル内で反応させると、一本の沈降線が得られた。免疫電気泳動による結果も考慮すると、この蛋白質は、同じ抗原性をもった4種の分子からなりたっていると見拠された。この蛋白質が現在までに知られている各種筋蛋白質と同じでないかどうかを調べるため、特に分離法からして類似したものである $\alpha$ -アクチニン、デスミンと、この抗血清の反応をみたが、いずれも沈降線を作らなかつた。

この蛋白質が筋細胞の、どの部分に局在しているかを知るため、抗血清を用いて間接蛍光抗体法による観察を行なった。その結果、抗血清によってZ膜のみが強く、特異的に染まることが明らかとなった。

この蛋白質を凍結、融解させた上清から得られたサンプルを電子けんび鏡によって観察すると、不定形の集合体に混じって、膜状の構造物が数多くみられる。また、繊維上の細いフィラメント構造がみられた。さらに、80Å程度のはばの格子構造をもった集合体も観察されたのである。

この蛋白質とアクチンとの結合度をみるため、F-アクチンとまぜて30分おき、超遠心後の上清と残さを電気泳動した。すると、この蛋白質の殆んどは上清に存在している。つまり、アクチンとの結合性が殆んどないことがわかつた。

最後に、今回報告された新しい蛋白質が、筋肉細胞の中でのどの構造に局在しているかを、特異的な抗体を用いた間接蛍光抗体法によって調べた。それによると、この抗血清はZ膜だけを強く、かつ特異的に染めることが判った。つまり、この蛋白質はZ膜に存在するのである。

### 論文審査の結果の要旨

筋肉細胞において、アクチン・ミオシンのような収縮性蛋白質の他に、これらの作用を調節する蛋白質がいくつか知られており、これらを調節蛋白質と呼ぶ。本論文は、現在まで知られていなかった新しい調節蛋白質をニワトリ骨格筋から抽出することに成功し、これが筋肉細胞中のZ膜に局在していることを明らかにしたものである。

申請者は、この新しい蛋白質の分離・精製の方法を確立し、電気泳動、吸光測定、アミノ酸組成の分析などの技術によって、この蛋白質の物理化学的性質のあらましを明らかにした。さらに、新しい蛋白質に対する特異的な抗体を得ることに成功し、これによって従来知られていた、分子量などの面でかなり類似した諸調節蛋白質とは全く別の、新しい蛋白質種であることを示した。

新しい蛋白質はZ膜に存在することは、蛍光抗体法によって明示されており、この観察を行なうに当たっての、対照の設定も注意深く行なわれていて、高い信頼性のある結果が得られている。この新しい蛋白質が電子けんび鏡観察で格子状を呈する、という観察結果はZ膜が細胞内で格子構造を作っている事実と関連して、興味深いものがある。

従来、Z膜に存在する調節蛋白質としては、 $\alpha$ -アクチニン、デスミン、10Sアクチニンの3つが知られている。申請者は今回の新しい蛋白質と、以上3つの調節蛋白質を、種々の物理化学的、免疫学的手法によって、広汎かつ注意深く比較検討し、今回のものはこれら3つのいずれとも異なるものであることを明らかにした。

新しい蛋白質の生理的機能については、今後の研究に待たねばならない。しかし、従来よく研究されていなかったZ膜の調節蛋白質に新しい一つの種類を加えた発見は重要である。技術的にも充分銑錬された研究で、結果の信頼度は高い。

以上の審査の結果、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。