

氏 名	平 間 稔 ひら ま のる
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 331 号
学位授与の日付	昭 和 49 年 5 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 動 物 学 専 攻
学位論文題目	ウニ初期のポリゾーム

論文調査委員 (主 査)
教授 岡田節人 教授 白上謙一 教授 小関治男 教授 高浪 満

論 文 内 容 の 要 旨

本論文はウニの初期胚を材料として、動物の初期発生段階におけるタンパク質の合成について研究したものである。運物細胞のタンパク質合成について研究する場合、タンパク質の合成活動であるポリゾームを、構造的にも構能的にも損傷を加えることなく細胞から抽出することは基本的に重要である。抽出の方法はいろいろあるが、ウニ胚についてかって報告されたものには、満足されるべきものはなかった。申請者の研究の最初は、まず、ウニ胚からのポリゾーム抽出の方法を確立することである。いくらかのテストが繰返された後、申請者が TMKB と名づけた、0.05M Tris-HCL (PH7.5), 0.30M KCL, 0.005M MgCL, 0.5mM EDTA-K 0.002M シクロヘキシミド, 0.005M 2-メルカプトエタノールからなる抽出液の使用が最適であることを知り得た。特に EDTA の添加はポリゾームを破壊することなく抽出するために不可欠であることが明らかとなった。

かって、ウニの初期発生において受精後第3分裂まではタンパク合成が細胞の分裂に応じて周期的に変動することが報告され注目されていた。申請者は、この機構を明らかにするために、自らの開発した方法で抽出されたポリゾームを用いて、ポリゾームの機能にもやはり周期性が存在するか否かを検討した。その結果、受精後ウニ胚の活性ポリゾームの量は直線的に増加するが、その上に細胞分裂の周期と並行して周期的に量の増減する活性ポリゾームの相のあることが明らかにされた。次に、この新しい方法で抽出されたポリゾームを試験管内に移して、無細胞系におけるタンパク合成を調べたが、この条件ではみかけ上のアミノ酸のとり込みはあっても、実際のタンパク合成は起こっていなかった。

次に、ウニ胚のもつポリゾームにおいて特定なタンパク質の合成に特異的に関係する部分の同定が試みられた。対称とするタンパク質としては動物の発生の最初期から合成が行なわれるとされているチューブリンを取上げた。このタンパク質がコルヒチン、ヴィンブラスチンと特異的に結合する性質をもつことを利用し、先に確立した方法で抽出したポリゾームにこれらの物質を加えて沈殿するポリゾーム部分を取出した。このようなポリゾームには、4個のリボゾームからなるポリゾームと、15~20個のリボゾームから

なるポリゾームの2つのグループのあることが判った。チューブリンのアミノ酸組成と分子量からチューブリン mRNA の分子量を概算し、これからポリゾームを構成するリボゾーム数と mRNA の分子量の関係を求めて、チューブリンを合成するポリゾームは、これら2つのうちの15~20個のリボゾームからなる方であると結論している。

実際、このようなポリゾーム部分から、ナッセントペプチドを単離し、電気泳動によって調べたところ、15~20個のリボゾームよりなるポリゾーム部分に、チューブリンと同じ電気的性質をもつペプチドであることが明らかとなった。

以上の結果から、15~20個のリボゾームからなるポリゾームが、実際にチューブリンの合成に関係するものであると断定しえたのである。

論文審査の結果の要旨

生物の初期発生の過程における核酸、タンパク質など高分子物質の合成についての研究は、現在多くの研究者が関心を示している重要なテーマである。しかし、このような研究を行なう場合、その用いる生物材料によって、今までバクテリアのような材料について確立されてきた研究技術を必要に応じて改良していく必要がある。特にポリゾームをできるだけ生体的にあるのと同じ機能と構造をもったままに、細胞から抽出することは、これらの研究にとって基本的に重要なことである。申請者は過去に用いられた方法を一つ一つ吟味して、その不備を補い標準的な技術を確認するのに成功した。ウニ胚からポリゾームを抽出する場合、 Mg^{++} 、 K^{+} の濃度を適当に保たないと大きな集合体しか得られない。また、EDTA の添加が必要である。申請者によって確立された方法は、申請者自身の、これに続く研究の基本となったと同時に、今後標準的なものとしてひろく使用されるであろう。

ポリゾーム抽出の成功を基礎として、タンパク合成の周期的変動の研究と、特異タンパクの合成に関するポリゾーム部分の同定が試みられた。ウニ初期胚におけるタンパク合成の周期性の存在という論点になっていた問題についていつの明確な根拠を考えることに成功した。チューブリン合成に関係するポリゾーム部分をウニ胚から分離、同定した研究は特に重要である。この研究においては申請者はポリゾームからチューブリン成分部分を特異的に沈澱させる条件をよく吟味して信頼性の高い結果を得ることに成功している。

申請者はいずれの実験においても技術面で細部の条件をよく吟味して、初期胚のタンパク合成の研究において再現性の高い結果を得ている。実験の企画力、結果の考察については、とりわけチューブリン合成ポリゾームの分離、同定の研究において秀れたものがあり、その結果として動物発生における高分子合成という、現在多くの注目を集める分野でみるべき貢献を行なったと考えられる。よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。