

Title	STUDIES ON ACTIN-RELATED GELATION OF EHRlich TUMOR CELL EXTRACT : A Ca ²⁺ -sensitive Gelation Factor "Actinogelin"
Author(s)	Mimura, Naotoshi
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/24462
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	三 村 直 穂
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 7 2 7 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 9 月 29 日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	アクチン関与のゲル化反応の研究—主としてエールリッヒ腹水 癌細胞無細胞抽出液に見い出された新Ca ²⁺ 感受性ゲル化因子 アクチノゲリンについて—
論文審査委員	(主査) 教 授 佐 藤 了 (副査) 教 授 殿 村 雄 治 教 授 岡 田 善 雄 助 教 授 浅 野 朗

論 文 内 容 の 要 旨

エールリッヒ腹水癌細胞の無細胞抽出液は今までに多くの細胞の抽出液で報告されているのと同様、アクチン関与のゲル化反応を示した。このゲル化反応は、低濃度(10⁻⁶H)のCa²⁺によって可逆的に阻害された。又、マイクロフィラメントの阻害剤として知られるサイトカラシンDは、マイクロフィラメント関与の細胞活性を阻害するのと同程度の低い濃度でこのゲル化反応を阻害した。次は、このゲルの生化学的な研究を行った所、二種類の異なったアクチン結合性のゲル化因子が見出された。一方は、分子量31万ダルトン(SDS中)のフィラミン様タンパク(当論文においてはフィラミンと呼ぶことにした)で、もう一方はCa²⁺感受性ゲルを形成する新種のタンパク(アクチノゲリンと命名した)であった。両タンパクとも均一にまで精製された。精製フィラミンと精製アクチノゲリンは、共に骨格筋のアクチンをゲル化させたが、後者のゲルのみがCa²⁺感受性を示した。又、フィラミンをアクチンとアクチノゲリンの混合液に加えてやるとCa²⁺感受性は失なわれた。両方のゲル化反応とも、サイトカラシンDによって阻害されたが、阻害にはマイクロフィラメント関与の細胞活性の場合に比べ、10倍の濃度を必要とした。アクチノゲリンの分子量は、SDS中で、11.5万ダルトン。クロスリンクの実験で23万ダルトン、沈降平衡の結果では25.1万と26万ダルトンで、アクチノゲリンは、分子量11.5万のサブユニットからなるダイマーとして存在すると結論された。アクチノゲリンは、アクチン10~12分子に1分子の割合で結合した。

論文の審査結果の要旨

非筋肉細胞のマイクロフィラメントはアクチンを主体とする構造体であり、食食、分泌、細胞運動、細胞融合などに関与することが明らかとなってきたが、これらの細胞活動におけるマイクロフィラメントの機能を分子レベルで明快に説明できるまでに至っていない。

三村君は、この点を解明する一つの有力手段として、ウニ卵、マクロファージなどの無細胞抽出液が示すアクチン関与のゲル化反応に着目し、より一般的な細胞としてエールリッヒ腹水癌細胞をとりあげ、その抽出液のゲル化反応を研究して次のような知見を得た。

1) まずエールリッヒ腹水癌細胞の抽出液がアクチン関与のゲル化反応を行なうことを確認し、このゲル化が μM オーダーの Ca^{2+} によってほぼ完全にかつ可逆的に阻害されることを見出し、この反応がマイクロフィラメントと Ca^{2+} で制御される細胞活性との関係を調べるための有用な実験系になりうることを示した。

2) 次に、ゲルの一成分と思われる分子量31万のサブユニットより成るフィラミンを精製し、これが骨格筋から精製したアクチンのゲル化を起こさせうることを明らかにしたが、このようにして再構成されたゲル化反応は Ca^{2+} による阻害を受けず、またその他の性質においても粗抽出液のゲル化とは異なっていた。

3) そこで Ca^{2+} 感受性ゲル化因子の探索を試み、粗抽出液よりフィラミンとは異なるタンパク質を精製することに成功し、これを“アクチノゲリン”と命名した。アクチノゲリンは精製アクチンと反応して Ca^{2+} 感受性のゲルをつくる。これはサブユニット分子量約11.5万で2量体として存在することが示された。

4) アクチノゲリンはG-アクチン単位40分子に1分子程度結合することによってゲル化を起こすが、 Ca^{2+} によって可逆的にゾル化することが明らかとなった。

以上のように、三村君の研究は、マイクロフィラメントに Ca^{2+} が作用する場合の実体と考えられる新タンパク質アクチノゲリンを発見し、それにもとづいて粗抽出液のゲル化反応の性質、ひいてはマイクロフィラメント関与の細胞の諸活性を分子レベルで解明する道を開いたものである。従って、本論文は理学博士の学位論文に十分価値あるものと認められる。