The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	顎下腺核蛋白質の脱燐酸化機構
Author(s)	三木, 浩三
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32250
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【6】

氏名・(本籍)	三木浩三（みき こうぞう）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 4435 号
学位授与の日付	昭和53年12月9日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**顎下腺核蛋白質の脱燐酸化機構**
論文審査委員	(主査) 教授 猪木 令三
	(副査) 教授 鈴木不二男　教授 作田 正義　助教授 加藤慶二郎
	助教授 重永 凱男

論文内容の要旨

近年，核蛋白質の修飾機構とくに非ヒストン蛋白質の燐酸化機構に関する研究は成熟有核細胞の遺伝子活性調節との関連で極めて重要視されている。すなわち，非ヒストン蛋白質はクロマチンに結合しているprotein kinaseによって燐酸化をうけて核酸合成を促進すると考えられている。また，この蛋白質に結合している燐酸基の代謝回転が極めてはやいことも知られている。しかしながら，この蛋白質の脱燐酸化機構についてはよく知られていない。

本研究は，ラット顎下腺核蛋白質の脱燐酸化機構をin vitroで追究して，その諸性質を調べるとともに，この脱燐酸化に関与するprotein phosphataseのin vivoにおける活性変動を核酸合成との関連において検索したものである。

ラット顎下腺単離核を$MgCl_2$およびγ-^{32}P-ATPを含むATPの存在下で加温振盪すると，^{32}Pは急速に核蛋白質に取り込まれて，反応開始後6分で平衡に達した。大部分の^{32}Pは非ヒストン蛋白質に存在しており，しかもその燐酸化部位はセリンであった。単離核を上記燐酸化反応の条件下で加温振盪した後，この燐酸化反応を選択的に阻害する濃度のEthylenediamine tetraacetic acid (EDTA)を添加してさらに反応を継続させると，いったん核蛋白質に取り込まれた^{32}Pは急速に除去された。しかもこの脱燐酸化は，ヒストン蛋白質よりも非ヒストン蛋白質，とくにPhenol可溶性蛋白質において著明に認められた。EDTAの代りにADPを添加した場合には，核蛋白質の脱燐酸化は認められなかった。^{3}H-Leucineをラット尾静脈内に投与して，核蛋白質を^{3}Hで標識した顎下腺単離核を用いた実験では，ヒストンおよび非ヒストン蛋白質における放射活性は全く変動しなかった。ヒストンおよび非ヒストン蛋白質の脱燐酸化は，Adenine，Adenosine，AMPあるいはADPによって全く影響

をうけず，p-Chloromercuribenzoate，N-Ethylmaleimide, $ZnCl_2$, $MnCl_2$, ammonium molybdate ($(NH_4)_6MO_7O_{24}$)さらにNaFによって完全に抑制された。しかしながら，Adenosine 3′,5′-monophosphate（Cyclic AMP）は非ヒストン蛋白質の脱燐酸化を著明に促進し，その至適濃度は10^{-6}Mであった。一方，ヒストン蛋白質の脱燐酸化はCyclic AMPによって全く影響を受けなかった。Cyclic AMPによる非ヒストン蛋白質の脱燐酸化の促進はNaFによって完全に抑制された。Guanosine 3′,5′-monophosphateはヒストンおよび非ヒストン蛋白質の脱燐酸化には何ら影響を与えなかった。牛の脾臓から分離精製したprotein phosphataseを用いて約30%脱燐酸化したPhosvitinは顎下腺クロマチンに結合しているprotein kinaseの基質（P-受容体）として使用し得るが，この反応を利用して調製した^{32}P- Phosvitinを用いて核蛋白質の脱燐酸化に関与するprotein phosphataseの核内分布を検索したところ，本酵素は顎下腺クロマチンには結合していなかった。

ラット顎下腺細胞内Cyclic AMP濃度は，当該腺細胞膜に存在するadrenergic β-receptorに作用するIsoprotrenol（Ipr）の1回投与によって著明に上昇した。すなわち，このCyclic AMP濃度はIpr投与15分後には1mg蛋白量当り300 p molesに達して，その後急速に低下し，投与1時間後にはほぼ対照群のレベルまで回復した。Iprを経時的に投与したラットから単離した顎下腺核の，非ヒストン蛋白質を脱燐酸化するprotein phosphatase活性は，Ipr投与後急速に上昇しはじめて投与30分後には対照値に比して約50%高い値を示して最高となり，以後この値は減少しはじめて，投与2時間後にはほぼ対照値のレベルまで回復した。一方，ヒストン蛋白質を脱燐酸化する protein phosphatase活性はIpr投与によって全く影響をうけなかった。さらに，Ipr投与後にみられる非ヒストン蛋白質を脱燐酸化するprotein phosphatase活性の促進はβ-blockerであるDichloroisoproterenolの前処置により完全に抑制された。顎下腺RNAへの^{3}H-Uridineの取り込みは，Ipr投与30分後から低下しはじめて，投与1時間後には対照値に比して約40%低下して最低となり，その後増加しはじめて投与4時間後には対照値のレベルまで回復した。このIpr投与後初期の段階においてみられる顎下腺RNA合成能の変動は，時間的に当該腺細胞内Cyclic AMP濃度の上昇と，これにともなう非ヒストン蛋白質を脱燐酸化するprotein phosphatase活性の上昇によって先行されていた。すなわち，顎下腺細胞内Cyclic AMP濃度の上昇は，非ヒストン蛋白質の脱燐酸化を促進してRNA合成を抑制する方向に作用すると考えられた。

以上の結果から，ラット顎下腺核には，核蛋白質の脱燐酸化に関与するprotein phosphataseが存在しており，本酵素は細胞の必要性や，細胞に対する外的な刺激に対応して活性調節をうけて，クロマチンに結合しているprotein kinaseとともに，とくに非ヒストン蛋白質の燐酸化レベルの調節を介して，核酸合成の調節に関与していることが明らかにされた。

論文の審査結果の要旨

本研究は，ラット顎下腺核蛋白質の脱燐酸化機構をin vitroで追究して，その諸性質を調べるとと

もに，核蛋白質の脱燐酸化に関与するprotein phosphataseのin vivoにおける活性変動を核酸合成との関連において検索したものである。

すなわち，顎下腺核には核蛋白質とくに非ヒストン蛋白質を強く脱燐酸化するprotein phosphataseが存在しており，本酵素はクロマチンに結合しているprotein kinaseとともに，非ヒストン蛋白質の燐酸化，脱燐酸化を介して核酸合成の調節に関与していることを明らかにし，このことは，非ヒストン蛋白質が遺伝子活性調節因子として果す役割を理解するうえで，極めて重要な知見であり，価値ある業績と認める。

よって本研究は歯学博士の学位を得るに十分値するものと認める。