



Title	Saccharomyces cerevisiaeの接合因子の構造と機能
Author(s)	田中, 隆治
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32390">https://hdl.handle.net/11094/32390</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	田中 隆治
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 4393 号
学位授与の日付	昭和 53 年 9 月 30 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	<b>Saccharomyces cerevisiae の接合因子の構造と機能</b>
論文審査委員	(主査) 教授 成田 耕造
	教授 倉橋 潔 教授 松原 央

### 論文内容の要旨

接合因子は酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の  $\alpha$  型細胞によって培養液中に分泌され、酵母菌の接合過程に重要な役割をもつ低分子の性ホルモン様ペプチドである。

私共は、本因子をリン酸セルロース、アンバーライト IRC-50 イオン交換クロマトグラフィー、さらにはセファデックス LH-20 カラムを用いて精製した。単離された接合因子はリシン 1, ヒスチジン 1, トリプトファン 2, グルタミン 2, プロリン 2, グリシン 1, メチオニン 1, ロイシン 2 そしてチロシン 1 の 13 残基のアミノ酸によって構成され、分子量 1684 からなるトリデカペプチドであり、5 pg/ml の濃度で  $\alpha$  型細胞の形態変化を誘導する生理活性を示した。また本因子のアミノ酸配列は Edman 分解法とカルボキシペプチダーゼ A による酵素分解法により以下のように決定した。

Trp-His-Trp-Leu-Gln-Leu-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Met-Tyr

この決定されたアミノ酸配列に従って接合因子を化学合成し天然の接合因子活性と比較した。さらに本因子の構造とその生理活性とを比較するために十数個のペプチドを化学合成し、接合因子活性を有する最少単位のペプチドを見つけ出した。

次に、本因子が  $\alpha$  型細胞の培養液中で失活していく機構を解明した。接合因子は  $\alpha$  型細胞が直線的に増殖している培養液中に最も多く分泌されるが、増殖が安定期に達すると培養液中の接合因子活性が著しく低下していくことを明らかにし、その培養液中より接合因子と接合因子に関連した 2 種類のペプチドを精製した。このアミノ酸配列を決定した結果接合因子が  $\alpha$  型細胞の培養液中でアミノ酸配列の 6 番目のロイシンと 7 番目のリシンのペプチド結合が分解され、Trp-His-Trp-Leu-Gln-Leu

と Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Met-Tyr の 2 種類のペプチドが形成され失活していくことを示した。最後に精製した接合因子を用いて  $\alpha$  型細胞に対する本因子の生理作用機構の一部を明らかにした。

### 論文の審査結果の要旨

酵母の一種, *Saccharomyces cerevisiae* は、通常 2 倍体として生育するが、栄養条件が悪いと  $\alpha$  型と  $\alpha$  型の 2 種類の胞子を形成する。これら胞子は  $\alpha$  型細胞および  $\alpha$  型細胞として 1 倍体のまま独自に増殖することも可能である。これら両細胞を共存させて培養すると、 $\alpha$  型細胞から接合因子が培養液中に放出され、これが  $\alpha$  型細胞に作用して  $\alpha$  型細胞を変形、伸長させて、遂には両細胞は融合して 2 倍体にもどることが明らかにされていた。田中君は  $\alpha$  型細胞の増殖に適した合成培地を選択し、接合因子を最大量放出する培養条件を決定したのち、培養液から本因子を効率良く分離、精製する方法を開発し、この方法を用いて構造研究ができる程度の量を集めることに成功した。この因子は 13 節のアミノ酸を含有するペプチドであることを先づ明らかにし、ついでその化学構造を次のように決定した。

Trp-His-Trp-Leu-Gln-Leu-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Met-Tyr。さらにこの因子を化学的に合成し、合成品が天然品と同一活性をもつことを示して、決定した構造の正しいことを証明し、ついで種種な長さのペプチドを合成し、His-Trp-Leu-Gln-Leu-Lys-Pro-Gly-Gln が活性発現の最小単位であることを確認した。また  $\alpha$  細胞を培養中、接合因子活性は約 40 時間で最高に達し、以後活性が急激に低下することを見出し、この因子の分解過程を追求した結果、この因子のアミノ末端から 6 番目と 7 番目の間の-Leu-Lys-結合が切断されて失活することを明らかにした。

さらにこの因子にフルオレッセインイソチオシアナートを作用させると、活性な蛍光性誘導体に導きうることを明らかにし、これを用いてその蛍光を追跡した結果、接合因子は  $\alpha$  細胞表面に特異的に吸着したのち、細胞内にとりこまれ、細胞核に達して DNA 合成を選択的に阻害することを証明した。

以上の田中君の論文は、酵母の接合過程に化学的な知見を与えた重要な結果であり、理学博士の学位論文として充分価値あるものと判定する。