

Title	ラットの神経膠細胞腫由来の細胞 (C-6) におけるNG, NG-ジメチルアルギニンを含む蛋白質の合成と分解に関する研究
Author(s)	平井, 基陽
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32497
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	ひら 平	い 井	もと 基	はる 陽
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	4821	号	
学位授与の日付	昭和55年2月22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	ラットの神経膠細胞腫由来の細胞(C-6)における N^G , N^G -ジメチルアルギニンを含む蛋白質の合成と分解に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授	垣内 史朗		
	(副査) 教授	西村 健	教授	山野 俊雄

論文内容の要旨

〔目的〕

蛋白質のメチル化は微生物から高等動物にいたる全生物に認められ、きわめて多くのメチル化蛋白質が存在することが知られている。しかしながら、その生理的意義に関しては全く解明されていない。

本研究は細胞核の水可溶性蛋白質分画に高濃度に含まれ、核の機能との関連が予想される N^G , N^G -ジメチルアルギニン (N^G , N^G -DMA) 残基を含む蛋白質に注目しラットの神経膠細胞腫由来の細胞(C-6)の培養実験を行ない、メチル化蛋白質の生合成および分解を検討し、蛋白質のメチル化の生理的意義を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

ラット神経膠細胞腫由来の細胞(C-6)を培養し、細胞を集め遠心分画法で核、ミトコンドリア、マイクロゾームおよび上清の4分画に分けた。蛋白質分画の調整は各組細胞内分画に終末濃度が10%になるようにTCAを加えて遠沈後、10%TCA、アセトンで洗滌して行なった。えられた蛋白質分画を6N塩酸で水解後、イオン交換樹脂カラムを用いて酸性および中性アミノ酸を含む分画と塩基性アミノ酸を含む分画に分け、アミノ酸分析機により蛋白質中のメチオニンと N^G , N^G -DMAを定量した。蛋白質中の N^G , N^G -DMAはマイクロゾーム分画蛋白質に最も高濃度について核分画蛋白質に多く存在した。

つぎに一定時間〔メチル- C^{14} 〕メチオニンを培養液に加えて培養し、蛋白質中のメチオニンと N^G , N^G -DMAおよび遊離のメチオニンとS-アデノシルメチオンへの放射能のとり込みを経時的に検討した。各アミノ酸にとり込まれた放射能の測定は、蛋白質中のメチオニンについては上述の中性および酸性アミノ酸分画を用い、 N^G , N^G -DMAについては塩基性アミノ酸分画をさらにイオン交換樹脂カラム

で分離したのち行なった。蛋白質中の N^6 , N^6 -DMAへの放射能のとり込みは蛋白質中のメチオニンへのとり込みに遅れておこることから蛋白質のメチル化は蛋白質の合成後におこることを確認した。

ついで放射性メチオニンを培養液に加えて一定時間培養したのち放射能を含まない培養液で培養を続け、 N^6 , N^6 -DMAを含む蛋白質の分解について検討した。マイクロゾーム分画蛋白質の N^6 , N^6 -DMA残基にとり込まれた放射能は最初の1時間半で急速に減少し、ついで一定の減少傾向を示したが、核分画蛋白質のそれは最初の3時間は減少せず以後一定の減少傾向を示した。

ついで上述の実験結果にもとづきメチル化蛋白質のマイクロゾームから核への細胞内移動を想定し、両分画の間に共通の N^6 , N^6 -DMA残基を含む蛋白質が存在するか否かを検討した。pH 8.0の緩衝液で抽出された両分画の水可溶性蛋白質についてSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行ない、その性質を比較検討した。核分画とマイクロゾーム分画の N^6 , N^6 -DMAを含む蛋白質に同じ泳動度をもつものが少なくとも2つ認められた。

〔総括〕

ラット神経膠細胞腫由来の細胞(C-6)を用いて N^6 , N^6 -DMAを含む蛋白質について検討し、以下の結果をえた。

- 1) 蛋白質中の N^6 , N^6 -DMAはマイクロゾーム分画蛋白質に最も高濃度に、ついで核分画蛋白質に高く、ミトコンドリア分画蛋白質および上清分画蛋白質には低濃度に存在することを明らかにした。
- 2) 蛋白質中の N^6 , N^6 -DMA残基の形成は蛋白合成に遅れておこることから蛋白質のメチル化は蛋白質の合成後におこることを確認した。
- 3) マイクロゾーム分画の N^6 , N^6 -DMAを含む蛋白質には代謝回転の早いものと遅いもの少なくとも2つの代謝プールが存在すること、および各細胞内分画の N^6 , N^6 -DMAを含む蛋白質の分解パターンからこの蛋白質のマイクロゾームから核への移動の可能性を示唆した。
- 4) 核分画とマイクロゾーム分画の蛋白質をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で検討し、核とマイクロゾームの水可溶性蛋白質中に N^6 , N^6 -DMAを含む共通の蛋白質が存在する可能性を示し、ある種の N^6 , N^6 -DMAを含む蛋白質のマイクロゾームから核へ、細胞内移動の可能性を示唆する知見をえた。

論文の審査結果の要旨

蛋白質のメチル化は微生物から高等動物にいたる全生物に認められ、多くのメチル化蛋白質の存在が知られている。しかしながらその生理的意義については全く分かっていない。

本研究では上記表題の細胞を用い、その中に含まれている N^6 , N^6 -ジメチルアルギニン残基を含む蛋白質の生合成と分解について実験を行った。その結果、蛋白質のメチル化は、蛋白質の生合成の後におきること、更にこの蛋白質のマイクロゾームから核への移動を示唆する成績を得た。このことは、メチル化蛋白質の生理的意義の解明に一步を進めたものと考えられ、高く評価される。