

| | |
|--------------|---|
| Title | ニワトリ輸卵管N α -アセチルトランスフェラーゼの精製, 生化学的および化学的同定と細胞内局在性 |
| Author(s) | 紙谷, 清 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| Text Version | none |
| URL | http://hdl.handle.net/11094/35210 |
| DOI | |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【6】

| | | | |
|---------|---|---------|----------|
| 氏名・(本籍) | かみ 紙 | たに 谷 | きよし 清 |
| 学位の種類 | 理 | 学 | 博 士 |
| 学位記番号 | 第 | 7 1 7 2 | 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和 61 年 3 月 25 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 | ニワトリ輸卵管 N ^α -アセチルトランスフェラーゼの精製, 生化学的および化学的同定と細胞内局在性 | | |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 | 崎山 文夫 | |
| | (副査) 教 授 | 池中 徳治 | 教 授 佐藤 了 |

論 文 内 容 の 要 旨

N^α-アセチルトランスフェラーゼをニワトリ輸卵管から精製し、生化学的および化学的に同定し、その細胞内局在性を調べ、シグナル認識粒子との比較を行なった。

ニワトリ輸卵管ホモジネートの 15,000 × g 上清を硫酸分画, DEAE-セルロース吸着, 同クロマトグラフィ, セファロース 6 B ゲル透過, 同再クロマトグラフィ, CoA 親和クロマトグラフィによって 6,160 倍に精製した。精製標品は ±SDS-PAGE で単一バンドを示した。

本酵素はタンパク成分以外に核酸を含んでおり, RNase A と *Staphylococcal nuclease* および *proteinase K* で失活することから両成分は本酵素の活性に必須である。本酵素は RNase A と RNase T₂ 消化によって失活する事実と RNase T₂ 消化物の PEI-セルロース薄層クロマトグラフィによる塩基分析の結果から, 本酵素の核酸成分は RNA であることが判明した。

ホロ酵素の分子量はセファロース 6 B によるゲル透過から 240 K であり, RNA の鎖長はホルムアミド存在下の PAGE 分析から 260 塩基対であり, タンパクサブユニットの分子量は SDS-PAGE 分析から 79 K であった。RNA とタンパク量の定量結果から, 本酵素中の両含量はそれぞれ 35% と 65% であり, 本酵素が 1 分子の 7 S RNA (分子量 83 K) と同一のタンパクサブユニット (分子量 79 K) 2 分子から構成されている (分子量 240 K) ことが判明した。

本酵素は DTT, β-ME, 還元型グルタチオンなどのチオール試薬によって活性化され, 一般的なチオール阻害剤によって失活するチオール酵素である。逆相 HPLC によって酵素反応産物 (1-³H) Ac-ACT H¹⁻²⁴ を単離し, そのプロナーゼ消化物から (1-³H) Ac-Ser を 紙クロマトグラフィで同定することによって, 本酵素がタンパク質の N 末端アミノ基をアセチル化し, 他の部分をアセチル化しないこと

を確認した。ACTH¹⁻²⁴とその関連ペプチドを用いた基質特異性の実験結果から、本酵素は鎖長10残基以上を認識し、ACTH¹⁻¹⁸-NH₂と(Cly¹)-ACTH¹⁻¹⁸-NH₂に対する基質特異性の差からN末端SerとGlyの側鎖を微妙に認識し区別する。

著者はラット肝臓の細胞分画法に工夫を加えてニワトリ輸卵管の細胞分画法を確立し、本酵素が粗面小胞体(RER)の細胞質側膜表面に局在することを明らかにし、RER上のリボソームにイオン結合している可能性を示した。

最後に、本酵素と犬膵臓のシグナル認識粒子とを比較し、両者RER上に局在するリボ核酸タンパク質複合体である点で似ているが、分子組成と活性の2点で異なる事から両者は異なる物質である。タンパク合成におけるシグナル認識粒子と本酵素の機能についても考察した。

論文の審査結果の要旨

1958年アミノ末端がアセチル化されている蛋白質がはじめて報告されて以来、今日までに200以上のN^α-アセチル化蛋白質が見いだされ、この修飾が蛋白質の生体内修飾として普遍的であることが示されつつある。しかし、アセチル化蛋白質のアミノ末端はアラニン、セリン、メチオニン、グリシンには限られており、これらの残基を識別してアセチル化する酵素の存在が予測されていた。

紙谷君は、ニワトリ卵白オボアルブミンのアミノ末端がアセチル化されていることに注目し、産卵期のニワトリ輸卵管よりN^α-アセチルトランスフェラーゼの精製を試み、酵素の低い安定性を克服して均一な標品を得ることに成功した。このような高純度の酵素標品の調製は、はじめてである。ついで、同君は、本酵素の組成分析を行い、分子量7万9千の同一のサブユニット2分子からなる蛋白質部分と7S RNAからなる核酸部分から構成されるリボ核蛋白質であることを明らかにした。さらに、この酵素が粗面小胞体の細胞質側に局在することを明らかにし、蛋白質の膜透過や膜内への移行に関与するシグナル認識粒子との分子構成様式の類似性を考慮してオボアルブミンの分泌機構について新しい考え方を提唱した。一方、同君は精製N^α-アセチルトランスフェラーゼの活性にチオール基が必須であること、基質のアミノ末端アミノ酸およびペプチド鎖長が重要であることなど酵素の特性を明らかにした。

以上、本論文は蛋白質アミノ末端のアセチル化機構およびアセチル化蛋白質の分泌機構に関する重要な新知見を提供するものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。