

氏名	安藤 恵子		
学位の種類	学術博士		
学位授与番号	博甲第936号		
学位授与の日付	平成3年3月28日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文題目	Molecular Biological Studies on the Paramyosin Gene (<u>unc-15</u>) Mutants and Intragenic Revertants in <u>Caenorhabditis elegans</u> 線虫 <u>Caenorhabditis elegans</u> におけるパラミオシン遺伝子 (<u>unc-15</u>) 突然変異体及び遺伝子内復帰突然変異体の分子生物学的研究		
論文審査委員	教授 佐藤公行	教授 小林靖夫	教授 榎本雅敏
	教授 澤田昭勝	教授 早津彦哉	

学位論文内容の要旨

C. elegans は非寄生性の土壌自活性線虫で、動物の発生、行動を研究するための最も優れたモデル動物の一つである。遺伝学的、生化学的、形態学的、及び分子生物学的解析により、ショウジョウバエと並んで、筋肉発生について多くの知識が蓄積されてきている。筋肉発生を理解するためには、筋肉を構成する個々の蛋白質の組織特異的及び時期特異的発現の機構と、それらの筋肉蛋白質の集合の機構を理解することが不可欠である。本研究は後者の側面からA帯を構成する太い線維形成を解明しようとするものである。

C. elegans の太い線維は主にミオシンとパラミオシンから構成されており、トロポミオシン、 α -ケラチン、ロドプシン同様 α -helical coiled-coil 蛋白質であることがそれぞれの構造遺伝子の塩基配列から予測されている。今までにパラミオシン突然変異として6系統、遺伝子内復帰突然変異として3系統が報告されている。今回これらの変異の核酸レベルの変化を同定し、変異がパラミオシンロッドのC末領域(39残基)内に集中することを明らかにした。C末領域のアミノ酸配列は α ヘリックス構造の乱れを示し、また免疫化学的実験でこの領域が抗原性をもつことがわかったことから、C末領域がパラミオシン分子の構造と太い線維集合における機能の両面に重要な部位であることが示唆された。さらに e73 変異とその復帰突然変異をパラミオシン平行自己集合モデル上に位置付けることにより、e73 において1アミノ酸の電荷逆転で失われた機能が対応するC末領域の相補的な電

荷の変化で回復することが示唆された。e73 個体の筋肉細胞内では太い線維の代わりにパラミオシンパラクリスタルが形成されており，局所的な静電的相互作用の変化がパラミオシンの集合の親和性を変化させるのではないかと考えられた。

ショウジョウバエの胚発生に關与する BicD 蛋白質においても α -ヘリックス構造上の 1 アミノ酸の電荷の変化により生体内で蛋白質の局在が変化する例も報告されている。 α -ヘリックス構造は多くの生物学的に重要な機能をもつ蛋白質に存在しており， α -ヘリックス間相互作用の分子レベルの解明は今後の重要な課題であろう。

以上のように多数の突然変異，復帰突然変異を単離解析する方法は筋原線維形成の分子生物学的機構を解明する上で有効な方法である。このような分子遺伝学的解析と，筋肉蛋白質の特異的発現機構の分子生物学的解析，従来の蛋白質化学，最近開発された逆方向遺伝学 (Reverse Genetics) との結合によって筋肉発生の新しい展開が期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文の研究は，線虫の運動異常を引き起こす突然変異体のうち，筋肉タンパク質パラミオシンの遺伝子に欠損を持つ変異体に注目して，その遺伝子構造の決定を基礎とする分子生物学的解析から，遺伝子と遺伝子産物及びそれに起因する個体の行動について，その因果関係を明らかにしたものである。

線虫は飼育が簡単で生活環が短く，行動など高次機能の解析に遺伝学的及び形態学的手法が容易に使えるので，筋肉・神経系に關わる遺伝子の突然変異体が百数个単離されており，また，筋肉タンパク質は比較的少量存在するので，細胞レベルの形態学的観察や機能に關係した生化学的研究も幾つかなされている。しかしながら，これまで遺伝子から行動までを結び付け，総合的に理解するような研究は余りなされていなかった。

本研究は，筋肉の太い纖維の構成成分パラミオシンの突然変異遺伝子の変異部位を，クローニングや塩基配列決定及び PCR 法などいわゆる遺伝子操作の手法を用いて決定し，突然変異によるアミノ酸置換によって引き起こされる太い纖維の形成異常から，個体の行動不良に至る，異なるレベルの現象を理解できるようにしたものである。すなわち，突然変異によってパラミオシン分子のカルボキシ末端の近くでアミノ酸側鎖の電荷が変わり，分子間相互作用の異常から分子集合の様式が変化し，筋肉の太い纖維が形成されなくなった為，線虫個体は動きが悪くなったことを明確にした。一見，複雑に見える生物における分子集合過程も，個体から細胞を経て分子へと掘り下げていけば簡単な素過程の積み重ねであることを例を挙げて示した。いくつかの突然変異体や遺伝子内復帰突然変異体についても，同様の方法で解析して結論の正当性をより確かにした。

以上の成果は，高等生物における構造形成や機能発現の研究分野に及ぼした影響が大きく，それ故に，安藤恵子氏は本自然科学研究科の学術博士を受ける資格があるものと判定した。