

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)乙 第22号	氏名	山口 拓
学位審査委員	主査 宮西 隆幸 副査 原 研治 副査 富永 義則 副査 山下 樹三裕		
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>山口拓は、論文「生物種由来の特定生体分子が異なる生物種の細胞へ与える分子作用——植物由来物質およびウイルス由来物質が与える動物細胞への分子作用 (Molecular action of specific biological products from a species on the cells of a different species)」を学位審査のため提出した。山口は、本研究科博士課程後期課程を平成20年3月に単位取得退学した。本論文は、研究科在籍時に行っていた研究成果をもとに作成したものである。</p> <p>論文は、以下の2つのテーマから構成されている。(1) 植物由来物質およびその誘導体が与える動物細胞への分子作用。(2) ウイルス由来物質が与える動物細胞への分子作用。本論文は、複雑な生態系の中で植物と脊椎動物、ウイルスとほ乳動物の相互作用を特定の分子作用に注目してとらえようとしたものである。審査員はこれらの論文内容について検討を行い、博士論文として相応しいか審査した。</p> <p>テーマ(1)は多年草植物(ナガエコナスビ)に含まれるトリデシルリゾルシン酸(TRA)と動物細胞の代表的分子モーターであるミオシンの相互作用を、アクチン結合機能およびATPase機能の活性測定により解析し、分子レベルの作用機構を解明を目的とした。実験方法としては、TRAの類似体の化学合成を行い、TRA存在下におけるミオシンEDTA(K⁺)-ATPase活性、Mg²⁺-ATPase活性、ミオシンATPase反応中間体の形成への影響、ミオシン頭部の構造変化、ミオシンのトリプトファン残基の蛍光変化、アクチンとの結合機能、筋原繊維の収縮速度を測定し解析した。さらに、ヒト培養細胞(HeLa)を用いて、TRAまたはその類似体を添加した時の細胞運動機能をPseudopodiaの伸長と収縮、分裂直後の細胞面積の増大速度の測定、wound healingアッセイによる細胞伸展速度を測定した。得られた成果としては、TRAとその合成類似体のミオシンEDTA(K⁺)-ATPase活性を阻害する効果を比較し、アルキル鎖とカルボキシル基がTRAの阻害効果に必須の構造であり、また二つの水酸基も補助的な効果を持つことが明らかとなった。一方、ミオシンMg²⁺-ATPase活性の活性化が観察され、特異的な構造変化が起こり同時にアクチン結合への競争的阻害作用が明らかになった。HeLa細胞では、骨格筋ミオシンへのアクチン結合阻害効果が確認されたTRAγを用いたところ、pseudopodiaの伸長と収縮速度、分裂後の細胞伸展速度、wound healingにおける細胞伸展速度が</p>			

それぞれ抑制され、細胞伸展部におけるミオシン IIB の局在分布が変化した。これらの研究結果を踏まえ、考察を行った。ミオシンとの相互作用に必須な TRA の分子構造の性質から、ミオシン分子と TRA は疎水性相互作用があることが示唆された。これはアクチンが示すミオシンへの Mg^{2+} -ATPase の活性化、EDTA(K^+)-ATPase 活性阻害および疎水的結合の相互作用様式と酷似しており、TRA の結合がアクチンによる活性化と類似の構造変化をミオシン分子に引き起こしている可能性が示唆された。今後、ミオシン分子上の TRA の量子化学レベルでの作用部位を特定やミオシン構造変化の詳細な解析が進めばミオシンの活性化機構のモデル物質として活用できる可能性を指摘した。

テーマ（2）は、長崎地方に多いとされるヒト成人 T 細胞白血病(Adult T-cell leukemia, ATL)は HTLV-1 ウイルスの感染が関与することが明らかにされているが、本研究では HTLV-1 由来のウイルスタンパク質のひとつ、HTLV-1 bZIP 因子 (HBZ) の新規アイソフォームである HBZ-SI が同定されたので、これら 2 つの HBZ アイソフォームの細胞内局在の差異を明らかにして、作用機構の解明に寄与することを目的とした。方法として、HBZ と HBZ-SI を GFP 標識し、それらを複数の培養細胞へ遺伝子導入して細胞内局在を調べた。得られた成果としては、EGFP-HBZ は核内に限定して果粒状の分布を示したが、HBZ-SI-EGFP は果粒状の分布に加えて核小体に似た核内構造に、密度の高いスポットが見られた。このスポットは核小体の染色と一致した。考察では、本研究で明らかとなった HBZ と HBZ-SI が異なる核内局在パターンは、HBZ アイソフォームが示す異なる核内局在のメカニズムの解明につながり、SI アイソフォームに結合している特異的アミノ酸配列が核小体への移行を補助する機能を示すことに成功した。

以上、2 つのテーマから構成されている山口拓の博士論文は、綿密な研究計画による実験によって得られた成果を基盤として、十分な実験結果を備えており、それに裏打ちされた考察および結論を得ている。専門分野における学術的にも価値も高いものであると判断できるので、博士号の学位を授与するに十分値するもの判定した。なお、参考論文 2 編の内一編はすでに Journal of Virology で印刷公表されており、他の一編は現時点で FEBS Journal へ投稿中であるが採択される可能性が極めて高いものと判定したことを書き添える。