

Purification and characterization of zebrafish proteasomes

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2022-12-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Ali, Md. Hasan メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00029221

本論文では、遺伝学的には重要でありながらこれまで解析されてこなかったゼブラフィッシュのプロテアソームのサブユニット組成に関する研究を進めた。プロテアソームは細胞内タンパク質分解経路の主要な酵素であり、多くの生命現象に関わる。プロテアソームの関わる経路の異常はヒトの病気の原因ともなり、特にガン細胞の増殖との関連では、この酵素を標的とした抗がん剤が開発され、既に投薬が始まっている。一方、ゼブラフィッシュは脊椎動物の研究モデルとして様々な研究に広く利用されているが、特に近年では遺伝子異常と病気との関連を研究するヒトの病気の原因究明のためのモデルとして製薬企業においての利用も進められている。従って遺伝子レベルの解析においてはゼブラフィッシュのプロテアソームと病気との関連で既に研究報告もある。しかしながら試料の量が限られる小型魚類であるゼブラフィッシュ生体からの本物のプロテアソーム分子の分離同定は試みて来られなかった。そこで本研究ではプロテアソーム分子をゼブラフィッシュ生体から分離精製し、細胞内での本来の複合体の構成を調べた。

バクテリアの混入が想定される腸管やヒレを除いた数百匹のゼブラフィッシュ生体試料から可溶性画分を得た後、5段階のカラムクロマトグラフィーによる分離により 20S プロテアソーム分子を精製した。さらに精製したプロテアソーム分子について2次元ゲル電気泳動による分離後、得られたタンパク質スポットについて飛行型質量分析計によるタンパク質の同定を行った。その結果、これまで遺伝子配列解析から推定されてきたようにゼブラフィッシュ 20S プロテアソームは複合体の外輪を構成する $\alpha 4$ サブユニットが $\alpha 8$ サブユニットとなっていることや、 $\alpha 1$ サブユニットについては2種類の重複遺伝子から合成されたタンパク質が混在していること、 $\alpha 2$, $\alpha 3$ と $\alpha 6$ サブユニットには翻訳後修飾を受けている分子が存在することが明らかになった。また、ゼブラフィッシュ 20S プロテアソームと共精製される分子量 35kDa のタンパク質が新たに見つかり、このタンパク質はこれまで報告されていないトロポミオシンであることが判明した。プロテアソームは多くのタンパク質との結合により様々な生命現象に関与することが報告されているが、新たな相互作用分子として興味深い。

以上のように、生体内のゼブラフィッシュ 20S プロテアソームの構造に関する確固とした知見をもたらした本博士論文は博士(理学)の学位論文にふさわしい内容を有するものと認められた。