

(104)

氏名(生年月日)	ツカハラテツオ
本籍	塚原哲夫
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第2063号
学位授与の日付	平成13年3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	蛋白構造と機能予測のためのアミノ酸配列解析法の開発
論文審査委員	(主査)教授 門間 和夫 (副査)教授 高桑 雄一, 村木 篁

論文内容の要旨

〔目的〕

本研究の目的は、アミノ酸配列の構造的な特徴を見つけ出す新たな手段の一つとして、アミノ酸の分布解析法 regional estimation methods for given amino acid sequences using the distribution: REMAD) と平均特性値解析法 (regional estimation methods for given amino acid sequences using the chemical characters: REMAC) を開発することであり、解析アルゴリズムの詳細な検証と応用例によりその有用性を示した。

〔材料および方法〕

本研究で開発したアミノ酸解析法は、配列上のアミノ酸分布を視覚的に調べる REMAD と、配列上のアミノ酸生化学的パラメーターを平均化計算して配列上の領域的な特徴を解析する REMAC である。解析アルゴリズムの検証にはアミノ酸を規則的に並べて目視確認しやすくした配列とその変異配列を用いた。さらに REMAC の検証には、市販の遺伝子・蛋白解析ソフトウェアを用いた解析結果との比較検証を行った。応用例として肥大型心筋症の病因蛋白の一つであるヒト心筋 β ミオシン重鎖蛋白 (心筋 β MHC) とその変異型蛋白 (17種類) を用いて解析を行った。

〔結果〕

検証用配列を用いて REMAC と REMAD の各解析機能が正しく機能することを検証し、実用的な実行時間で解析できることを示した。心筋 β MHC を応用例とした REMAD の結果、ヘッド部とロッド部でアミノ酸分布の違いが明瞭に表示され、ヘッド部に特徴的な新たな配列 "XX₇アミノ酸_X" (X は G, F, M, Y, P のいずれかのアミノ酸) を見出すことができた。

REMAC による分子量、疎水性特性、 α ヘリックス指標、 β 構造指標の解析の結果、心筋 β MHC ヘッド部とロッド部での領域的な特徴をそれぞれ示した。

〔考察〕

REMAC 解析のアミノ酸の偏在を視覚的に捉え、配列区分毎に積算したアミノ酸分布の定量的な比較を行う機能は、既存の解析ソフトウェアにはない機能であり、この機能により新たなモチーフ構造などを発見する手がかりが得られる可能性を示した。REMAC 解析は連続的に解析パラメーターサーベイができることと、野生型と変異型配列を同時に解析して変異部分の特性値変化を定量的に表示できる特徴がある。心筋 β MHC ヘッド部の疎水性特性による REMAC 解析結果から、蛋白の収縮機能やすべり速度などが大きく損なわれるような変異蛋白では、変異部分の疎水性特性の差異が大きく、これらの機能が損なわれていない変異蛋白では、疎水性特性の差異も少ないという相関関係がわかった。

〔結論〕

本研究で開発した REMAD および REMAC 解析が正しく機能することを検証し、且つ実用的な時間で解析できることを示した。REMAC 解析がアミノ酸の特徴的配列を見出すために有用な手段であることを示した。REMAC 解析ではアミノ酸の変異による機能的な関連を議論するための新たな方法であることが示唆された。これらの解析結果と蛋白の構造や機能を定量的に結びつけるためには、今後3次元構造が調べられている酵素蛋白とその変異蛋白を用いた定量的な分析研究が必要と考える。

論文審査の要旨

この論文では蛋白構造と機能予測のためのアミノ酸配列解析法を開発した。肥大型心筋症の心筋ミオシン重鎖のアミノ酸異常は自験例と文献上十数種類が発見されている。これらのアミノ酸異常をコンピューターで新しい2方法で解析した。第一の方法ではアミノ酸を縦軸に、配列順を横軸にとり、プロットしてアミノ酸の配列パターンを可視的に表現した。これによりアミノ酸配列のパターンの繰り返しなどが判断容易になった。第二の方法ではアミノ酸の親水性、疎水性により、28個ずつアミノ酸ごとに点をつけてグラフ化し、正常例と比較し、異常例の異常部位を容易に示す方法を開発した。この2方法は今後蛋白構造と機能予測のために活用されることが期待される価値ある研究である。

主論文公表誌

蛋白構造と機能予測のためのアミノ酸配列解析法
開発

東京女子医科大学雑誌 第71巻 第1号 29-49頁 (平成13年1月25日発行) 塚原哲夫, 松岡瑠美子, 古谷道子, 門間和夫

副論文公表誌

- 1) A relationship between embryonal and tumor N-myc protein expression as revealed by anti N-myc protein antibody (抗 N-myc 蛋白抗体によって見出された胚性および腫瘍性 N-myc 蛋白発現の関連). *Clin Chem Enzym Comms* 2: 227-234 (1990) Shimatake H, Nakagawa C, Tsukahara T, Yokoyama T
- 2) The N-myc gene product in primary retinoblastoma (原発性網膜芽細胞腫における N-myc 遺伝子産物). *Cancer* 63(11): 2134-2138 (1989) Yokoyama T, Tsukahara T, Nakagawa C, Kikuchi T, Minoda K, Shimatake H
- 3) Genetic engineering of human N-myc oncoprotein and the production of anti human N-myc protein antibody (ヒト N-myc 癌蛋白の遺伝子工学的産生と抗ヒト N-myc 蛋白抗体の作製). *東邦医会誌* 36(4): 207-216 (1989) Nakagawa C, Tsukahara T, Shimatake H
- 4) 小児悪性腫瘍にみられる N-myc 癌蛋白の発現. *医のあゆみ* 145(6): 417-421 (1988) 塚原哲夫, 嶋武博之
- 5) Relationship between neoplastic and embryonal N-myc oncoprotein expression (腫瘍性および胚性 N-myc 癌蛋白発現の関連). *腫瘍マーカー研究会記録* 8: 193-195 (1988) 塚原哲夫, 中川千鶴, 嶋武博之
- 6) 抗 N-myc 抗体を用いて神経芽細胞腫を原因診断する. *バイオメデ* 2(10): 76-82 (1987), 中川千鶴, 塚原哲夫, 菊池孝信, 嶋武博之
- 7) 遺伝子工学的手法によるヒト N-myc がん遺伝子産物に対する抗体の作成と臨床がん診断への応用. *最新医* 42(7): 1491-1505 (1987) 嶋武博之, 中川千鶴, 菊池孝信, 塚原哲夫
- 8) Blot 法による DNA 分析の原理と実際. *臨免疫* 18(Suppl 10): 22-31 (1986), 嶋武博之, 塚原哲夫
- 9) Distribution of LHRH-like immunoreactivity in the brain of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) with special reference to the nervus terminalis (日本ウナギ (*Anguilla japonica*) 脳の終板器官に注目した LHRH 様免疫活性の分布). *Zool Sci* 2: 537-547 (1985) Nozaki M, Fujita I, Saito N, Tsukahara T, Kobayashi H, Ueda K, Oshima K