

## 最近のトピックス

## エナメリンの構造決定

野原 廣美

脊椎動物の歯を覆っているエナメルはアメロブラストと呼ばれるエナメル器官の特殊な細胞によって合成され、分泌される。元来は蛋白質に富み鉱物質の少ないエナメル基質は、発達の過程で大部分の蛋白質を失い、カルシウムとリン酸を獲得して石炭化されて行く。発達途上のエナメル基質は、主として2種類の蛋白質、粗水性でPro, His, Glnに富むアメロゲニンと酸性でGln, Asp, Ser, Glyに富むエナメルリンから構成されている。エナメル基質の90%はアメロゲニンによって占められ、残り10%はエナメルリンによって占められている。

これ等の2種類の蛋白質の機能は未だに解明されていない。しかし、アメロゲニンは、始めは結晶間に局在し、石炭化の間に選択的に失われて行くことが知られている。一方、エナメルリンは成熟エナメルにも一部残っていることが知られ、石炭化の核の役割を果すのではないかと推察されている。これ等の機能の解明には先づその構造決定が必須であると考えられている。アメロゲニンについては、己にSnead等により1985年にマウスからクローニングされ、次いで下川等により牛からクローニングされ、その構造が決定されている。此の度、Deutsch等(1991)により、仔牛からエナメルリンがクローニングされたので、その概要を紹介する。

エナメルリン cDNA (エナメルリン・メッセンジャーRNAに相補的DNA) はホルスタイン子牛(3ヶ月)のエナメル器官から精製した poly A mRNA を基に作製された。これを lamda Zap 2 expression library の制限酵素 Eco RI site に挿入し、増幅後エナメルリンの抗体を

用いてスクリーニングした。こうして得られた2種のエナメルリン・クローン [2.8及び1.8kb (1000塩基)] について、塩基配列が決定された。(cDNAの塩基配列が決定されると、アミノ酸配列が推定される。)

このエナメルリン cDNA クローンは、2674塩基(スクレオチド)から成り、これから次のようにしてエナメルリン(Enamelin, Tuftelin)が389個のアミノ酸から成る糖を持った酸性蛋白質であることが推定された。即ち、有核細胞の蛋白合成開始部位としての共通配列(Kozak consensus sequence)、GCCATGGによって囲まれた182番目の塩基、メチオニン・コドン(ATG)に続いて、389個のアミノ酸の“開いた読み枠”(open reading frame)があり、1349番目の塩基の停止コドン(TAG)に至ることが知られた。この配列の中には、5個のシステイン残基と1個の強いN-グリコシル化部位(Asn-Lys-Ser)がある。又、すべての石炭化組織にあるリン酸化型ペプチド、Glu-Ser-Leu、を含んでいる。5'側の181塩基(1-181)及び3'側の1322塩基(1352-2674)は翻訳されない配列である。これ等から、エナメルリンの分子量は43,814と計算された。グリコシル化、リン酸化が起ると更に大きくなる。

このアミノ酸配列のコンピューター解析により、この蛋白質は高度に親水性であり、等電点5.2の酸性蛋白であることが明らかとなった。又、染色体DNAの分析から、半数染色体当り唯一の遺伝子であり、1個又はそれ以上のイントロンを含むことが示唆された。

## 参考文献

- D. Deutsch et al. (1991) J. Biol. Chem. 266, 16021-16028.