



Title	Identification and Characterization of Novel Protein Kinases Involved in Developmental Processes
Author(s)	Oishi, Isao
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3128852
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	大 石 勲
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 9 5 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学 位 論 文 名	Identification and characterization of novel protein kinases involved in developmental processes (発生に関わる新規タンパク質キナーゼの同定とその機能解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小川 英行
	(副査) 教 授 近藤 寿人 神戸大学助教授 南 康博

論 文 内 容 の 要 旨

これまでにタンパク質キナーゼ（以下キナーゼ）が発生過程において重要な役割を担うことが明らかにされてきた。本研究においては、形態学的解析が容易なショウジョウバエを用い、発生過程において時期および部位特異的な発現を示す2つの新規キナーゼDpkn (*Drosophila protein kinase related to PKN*) ならびにDnrk (*Drosophila neurospecific receptor kinase*)の同定並びにその機能解析を行った。

Dpknは哺乳類において同定されたPKN (protein kinaseN) とキナーゼ領域において極めて高い相同意性を示し、PKNのショウジョウバエ相同分子であることが強く示唆された。Dpknはショウジョウバエの初期胚において中胚葉に発現し、胚発生の進行に伴い筋肉組織に特異的に発現が認められることから、筋肉組織の形成、機能に関与していることが考えられる。

Dnrkは受容体型チロシンキナーゼ（以下RTK）の特徴を有しており、細胞外領域にタンパク質間の相互作用に関わるKringle領域などの特徴的な構造が認められる。また細胞内キナーゼ領域には特徴的な2つのATP結合部位及び他のシグナル伝達分子と結合し得るモチーフが認められた。更に、ノザンプロット法、全胚を用いたハイブリダイゼーション法による解析から、Dnrkはショウジョウバエにおいて神経分化、ネットワーク形成のおこる時期に神経系特異的に発現していることが明らかとなり、Dnrkが神経系における細胞間情報伝達に関与することが示唆された。

次に、Dnrkのキナーゼ領域の機能を解析する目的で、2つのATP結合部位を含むキナーゼ領域を培養細胞に過剰発現させ、*in vitro* kinase assayを行ったところ、チロシンキナーゼ活性が証明された。更に、Dnrkの変異体を用いた同様の解析から、Dnrkの触媒活性には2箇所のATP結合部位のうちC端側の1箇所で十分である一方、N端側のATP結合部位がキナーゼ活性に関与する事も示唆された。

Dnrkは、既知の神経系特異的なRTKであるヒト神経芽細胞腫由来のRor1, Ror2及びショウジョウバエ由来のDrorとの相同意性を示すことから、ショウジョウバエでもヒトにおいても神経系特異的に発現する2つの分子からなるRorファミリーが存在することが示唆された。実際、マウスの神経発生のおこる胎児期のcDNAライブラリーからRor1 Ror2遺伝子のクローニングに成功し、ショウジョウバエからマウス、ヒトに至るまで種を超えて構造の類似した2つのメンバーからなるRorファミリー-RTKsが存在することが明らかとなった。さらに、これらRorファミリーは、神経筋接合部のシナプス形成時に発現し、シナプス形成に不可欠な筋肉特異的RTKであるMuSK (*muscle-specific RTK*) をはじめとするMuSKファミリーとも構造の類似性が認められた。このような構造と発現様式の類

似性から、Ror/MuSKファミリーという新規RTKファミリーの存在が強く示唆される。また、MuSKファミリーのメンバーが神経筋接合部の筋肉側でのみ発現し、シナプス形成を司っていることから、神経系で発現するRorファミリーは神経細胞間のシナプス形成に関与していることが予想される。

論文審査の結果の要旨

ショウジョウバエの発生過程で、時期および部位特異的に発現する新規キナーゼ遺伝子を5種類分離することに成功し、そのうちDpknとDnrkの詳細な解析を行った。Dpknは中胚葉に発現し、発生の進行に伴い筋肉組織に特異的に発現が認められる事から、筋肉組織の形成と機能に関与していると考えられる。他方Dnrkは受容体型チロシンキナーゼの特徴を持つ蛋白質をコードし、神経分化、ネットワーク形成の起こる時期に神経特異的に発現しているので、神経系の細胞間情報伝達に関与していると考えられる。このDnrkと相同性を示すマウスのRor1とRor2遺伝子のクローニングにも成功した。

これらの新規キナーゼ遺伝子の発見は発生段階での筋肉や神経系の形成の解析に新しい道を開くもので、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。