

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	<a href="https://doi.org/10.11501/3128852">https://doi.org/10.11501/3128852</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	おお いし いさお 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 kinase N) とキナーゼ領域において極めて高い相同性を示し、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、機能に關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關わる Krigle 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關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關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ことから、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ため、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。