OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Suppression of Protein-Tyrosine Kinase Activities of Src Family by A Cytoplasmic Protein-Tyrosine Kinase Csk
Author(s)	名田, 茂之
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3094137
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	名田茂之（なだしげゆき）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 11224 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Suppression of Protein-Tyrosine Kinase Activities of Src Family by A Cytoplasmic Protein-Tyrosine Kinase Csk （細胞質型チロシンキナーゼ Csk による Src ファミリーチロシンキナーゼの活性抑制）
論文審査委員	（主査） 教授 中川 八郎 （副査） 教授 浅野 朗　教授 畠中 寛

論文内容の要旨

Src ファミリーは非レセプター型チロシンキナーゼであり，神経系と免疫系において顕著に発現する。特に免疫系では，細胞表面に存在するレセプター分子と共役して，細胞外からのシグナルを細胞内に伝達する機能を有することが示されてきた。一方，神経系ではその機能は全く解明されていなかった。しかし，岡田ら（Okada, M. and Nakagawa, H. (1989). J. Biol. Chem.*264*, 20886-20893.）によって *in vitro* で $p60^{c\text{-}src}$ のチロシン527（Tyr527）のリン酸化を触媒し，その活性を抑制する50kDa の新しいチロシンキナーゼがラットの新生児脳より見出された。そこで，本研究はこの50kDa の新規チロシンキナーゼ（Csk［C-terminal Src kinase］と命名）の特性を明らかにし，Src ファミリーの活性調節における本酵素の役割を解明することを目的として行った。

まず基質特異性を酵母で発現させた $p60^{c\text{-}src}$ の変異型分子を基質にして検討したところ，チロシンキナーゼ活性を消失した変異型 $p60^{c\text{-}src}$ である R295 は Csk によってリン酸化されたが，更に加えて Tyr527 をフェニルアラニンに置換した R295F527 は Csk によってリン酸化されないことが明らかになった。この事実から，Csk による $P60^{c\text{-}src}$ のリン酸化は Tyr527 特異的であることが確認された。更に Tyr527 は Src ファミリーに保存され，この部位がリン酸化されれば活性抑制が起こることが知られていることから，Csk は $p60^{c\text{-}src}$ の活性抑制因子であることが推測された。cDNA クローニングの結果，Csk は N 末側に SH3，SH2 構造を持つ細胞質型チロシンキナーゼであること，自己リン酸化部位や活性制御リン酸化部位を持たない全く新しい型のチロシンキナーゼであることなどが判明した。またノーザンブロットの結果，Csk は新生脳，脾臓，胸腺で発現が高かったことから，これらの組織に多量に含まれる $p60^{c\text{-}src}$ 以外の Src ファミリーキナーゼの活性抑制因子である可能性も示唆された。更に $p60^{c\text{-}src}$ と Csk を同時に酵母細胞内で発現させると，Csk は酵母細胞内でも $p60^{c\text{-}src}$ の Tyr527 のみをリン酸化してその活性を抑制した。

以上の *in vitro* の実験結果を踏えて *in vivo* に於ける Csk の機能を *csk* 遺伝子欠損マウスの作製を通して解析した。*csk* 遺伝子欠損ヘテロマウス同士を交配して得たホモマウス胚は胎生8.5日以後に反転不全，神経管の形態の異常と神経管上皮細胞の分裂停止，神経冠細胞の壊死等の発生異常を示し，胎生10日前後で致死となることが判明した。同時にこれら Csk 欠損胚では $p60^{c\text{-}src}$，$p59^{fyn}$，$p53/56^{lyn}$ の構成的な活性化と細胞内蛋白質のチロシンリン酸化の亢進が観察された。

これらの結果から，*csk* が Src ファミリーの活性抑制因子として必須な遺伝子であること，その欠損が他の遺伝子によっては相補されないことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本論文では新しく見出された，Csk と命名された酵素を精製し，クローニングした結果，それが全く新しい型のチロシンキナーゼであり，生理的条件下で非レセプター型チロシンキナーゼである Src ファミリーの活性を抑制することを示した。また Csk 遺伝子欠損マウスを作製して，Csk が胚発生にも Src ファミリーの活性抑制に必須な因子であることを証明しているので，博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。