Osaka University Knowledge Archive

Title	A mouse brain cDNA encodes a novel protein with the protein kinase C phosphorylation site domain common to MARCKS
Author(s)	梅景, 正
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37989
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【42】

氏　　名	梅景　正（うめかげ　ただし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学位記番号	第　10180　号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科　内科系専攻
学位論文名	**A mouse brain cDNA encodes a novel protein with the protein kinase C phosphorylation site domain common to MARCKS　(Protein Kinase Cの新しい基質遺伝子の同定)**
論文審査委員	(主査) 教授　松沢　佑次 (副査) 教授　津本　忠治　　教授　柳原　武彦

論文内容の要旨

(目　的)

脳神経系が局在する固有の機能を発揮するためには多様な蛋白質が細胞特異的に発現することが必要である。本研究では，脳の局在機能を知る手掛かりとして大脳部位特異的に発現している物質の遺伝子を新たに同定し解析をおこなうことを目的とした。海馬において高度に発現する遺伝子を解析した結果，細胞内情報伝達に重要な役割を担うProtein Kinase　Cの新たな基質遺伝子と考えられるF52をみいだした。

(方法および成績)

1．スクリーニング

1）マウス脳poly（A）mRNAから作製したcDNA libraryを同じpoly（A）mRNAから得たcDNAをプローブとしてplaque hybridizaionを行った。非特異的に発現しているクローンを除くためシグナルのみられないクローンを選択した。

2）3種のmRNA（12日目のマウス小脳mRNA，生後22日目の小脳mRNA，生後22日目の小脳を除いた全脳mRNA）を調製した。上記1）で選択したクローンをプローブとしてNorthern hybridizationを行い大脳に高度に発現しているクローンを選択した。

3）生後22日目のマウス脳から水平断組織薄片を作製し，上記2）で選択したクローンをプローブとしてin situ hybridizationを行った。dentategyrusとanterior olfactory nucleusに強いシグナルを呈するクローンを選択した。

2．クローニングと塩基配列決定

マウス脳 mRNA より作製した cDNA library を上記 3）で得たクローンをプローブとしてスクリーニングし，全長 1.6 Kbp の cDNA（F52）を得た。M13 vector に subcloning し，Sanger 法（shot gun 法および oligo walking 法）によって全塩基配列を決定した。

3．解　析

F52は200 アミノ酸残基よりなる open reading frame をもち，推定分子量20，165Da の親水性蛋白質をコードする。FASTA programを用いて解析を行なった結果，F52は Protein Kinase C の主たる基質である MARCKS（Myristoylated Alanin-Rich C Kinase Substrate）と 3 つの領域すなわち次に述べる（a），（b），（c）でそれぞれ76%，92%，86%と高い homology が認められた。

（a）myristoylation を受ける consensus sequence をもち，細胞膜に結合すると考えられる領域（M GSQSSKA）

（b）領域（SPSKANGQENGHV）

（c）3 個のセリンを有し，Protein Kinase C によりリン酸化を受けると考えられる α ヘリックス構造をなす領域（KKKKKFSFKKPFKLSGLSFKRNRK），この領域はリジンに富む塩基性アミノ酸配列をもち Calmodulin との結合能を有すると考えられる。

Protein Kinase C および Calmodulin は細胞内情報伝達において，海馬での記憶形成の基礎課程とみなされる長期増強に関与する。脳全体に広範な発現をしている MARCKS に対し，F 52は dentate gyrus において高度に発現がみられることから海馬特異的な細胞内情報伝達に関与すると考えられる。

（総　　括）

1．MARCKS と高い homology をもつ Protein Kinase C の新しい基質遺伝子と考えられる F 52を同定した。

2．F52は myristoylation を受ける領域と塩基性アミノ酸に富む Protein Kinase C のリン酸化領域を持つ。

3．F52は dentate gyrus, anterior olfactory nucleus に特異的に発現しており，海馬における細胞内情報伝達系への関与を示唆する。

論文審査の結果の要旨

本研究は，脳神経系の局在機能を解明する手掛かりとして，大脳部位特異的に発現している物質の遺伝子を同定することを目的としたものである。

その結果，海馬歯状回と前嗅脳核に局在して高度に発現する遺伝子 F52をみいだし全塩基配列を決定した。F52は200アミノ酸残基の open reading frame を持つ全長1.6Kbp の cDNA で親水性タンパク質をコードする。F52は myristoylation 領域と塩基性アミノ酸に富む Protein Kinase C のリン酸化領域

をもつことを確認した。

本研究は，脳機能に重要な役割を担うと考えられる遺伝子を同定し，protein Kinase C を介した神経細胞内情報伝達系の解明に貢献するものであり学位に値する。