



Title	Caldesmon and Low Mr Isoform of Tropomyosin Are Localized in Neuronal Growth Cones
Author(s)	吉良, 正浩
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39829">https://hdl.handle.net/11094/39829</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	吉 良 正 浩
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 3 9 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 8 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	Caldesmon and Low Mr Isoform of Tropomyosin Are Localized in Neuronal Growth Cones (神経成長円錐に局在するカルデスモンと低分子量型トロポミオシン)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉川 邦彦
	(副査) 教 授 祖父江憲治 教 授 福田 淳

## 論 文 内 容 の 要 旨

## [目的]

神経成長円錐は神経突起の先端にあり、基質と接着して神経突起伸長のためのアンカーとなるとともに、シナプス形成のための活発な探索運動を行っている。神経成長円錐は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に依存して急速な形態変化を生じる。本研究においては神経成長円錐の  $\text{Ca}^{2+}$  感受性の物質的基盤を明らかにするために、 $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリン依存性アクミオシン制御蛋白質であるカルデスモンの局在を生化学的、形態学的に検討した。また、カルデスモンとともにアクミオシン系を構成するトロポミオシンについては、高分子量型あるいは低分子量型のいずれのアイソフォームが局在するかを検討した。

## [方法]

## 1. 抗体

抗カルデスモン抗体は、鶏砂のうから精製した平滑筋カルデスモンを抗原として作成したポリクロナール抗体を使用した。抗低分子量型トロポミオシン抗体は、ヒト血小板から低分子量型トロポミオシンを精製し、これを抗原として作成したポリクローナル抗体を使用した。高分子量型トロポミオシンと GAP43に対する抗体は市販のものを利用した。

## 2. ラット前脳成長円錐分画の調製

胎生18日齢のラット前脳から GAP43の局在を指標にショ糖密度勾配法により成長円錐分画の調製を行った。調製した分画は SDS-PAGEにより分離後、Immunoblottingによりカルデスモン、トロポミオシンの局在を検討した。

## 3. 細胞培養と細胞染色

胎生15日齢のラット大脳皮質および胎生17日齢のラット海馬よりニューロンを初代培養した。カルデスモンとトロポミオシンの細胞内局在を決定するために、パラフォルムアルデヒドで固定後、間接蛍光抗体法により免疫染色した。F-アクチンは、ローダミン標識ファロイジンにより検出した。

## [成績]

胎生18日齢のラット前脳からショ糖密度勾配法により調製した成長円錐分画に対する Immunoblotting の結果、カルデスモンおよび低分子量型トロポミオシンは成長円錐分画に存在したが、高分子量型トロポミオシンは検出されな

かった。

培養ニューロンに対する免疫染色の結果、大脳皮質ニューロンおよび海馬ニューロンのいずれにおいても、カルデスモンと低分子量型トロポミオシンは成長円錐、神経突起そして細胞体にかけて広く分布した。成長円錐における局在については、アクチンの豊富なフィロボディアから成長円錐体部にかけて、斑点状の染色がみられた。高分子量型トロポミオシンに対する抗体ではニューロンは全く染色されなかった。

#### [総括]

以前より、アクチン・ミオシンの神経成長円錐における局在は知られていたが、今回の研究により、カルデスモンと低分子量型トロポミオシンの神経成長円錐における局在を、生化学的・形態学的に明らかにした。これらは、 $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリン依存性アクトミオシン制御蛋白質であるカルデスモンが低分子量型トロポミオシンとともにアクチンとミオシンの相互作用を  $\text{Ca}^{2+}$  依存性に制御することによって、神経成長円錐の運動機構に関与していることを示唆している。

また、従来、線維芽細胞では、運動性の高い細胞辺縁部には高分子量型トロポミオシンは存在せず、低分子量型トロポミオシンの局在が報告されている。今日、運動性の高い構造である神経成長円錐においても低分子量型トロポミオシンのみが存在していることを明らかにしたが、これはトロポミオシンの分子種による機能の違いを反映している可能性を示唆するものである。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、神経成長円錐におけるアクトミオシン系蛋白質（カルデスモン・トロポミオシン）の細胞内局在を、生化学的・形態学的に詳細に検討したものである。神経成長円錐にはフィロボディアから成長円錐体部にかけて、カルデスモン・低分子量型トロポミオシンが存在し、高分子量型トロポミオシンは存在しないことを示した。これらは、 $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリン依存性アクトミオシン制御蛋白質であるカルデスモンが低分子量型トロポミオシンとともにアクチンとミオシンの相互作用を  $\text{Ca}^{2+}$  依存性に制御することによって、神経成長円錐の急速な形態変化・運動に関与していることを示唆している。

本研究は、神経成長円錐の  $\text{Ca}^{2+}$  感受性の物質的基盤を明らかにした点で、神経科学の進歩に寄与したと考えられる。したがって本研究は学位に値するものと認める。