

Title	Characterization of Cdc2-related kinase PCTAIRE2 and its interactive protein, Trap, in rat central nervous system
Author(s)	広瀬, 隆
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41562">https://hdl.handle.net/11094/41562</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	ひろ せ たかし 広 瀬 隆
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 14411 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Characterization of Cdc2-related kinase PCTAIRE 2 and its interactive protein, Trap, in rat central nervous system (CDC 2相同性キナーゼ PCTAIRE2 とその結合因子 Trap の神経系における機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 永井 克也  (副査) 教授 畠中 寛 教授 吉川 和明

### 論文内容の要旨

[はじめに]

サイクリン依存性キナーゼをはじめとする CDC2 相同性キナーゼは、細胞分裂制御において中心的な役割を担うと考えられている。一方で、CDC2 相同性キナーゼの中には、終末分化した神経細胞で高発現しているものが知られており、出芽酵母の *cdc 28* ミュータントを相補できないことから細胞分裂以外の機能が予想されるが、その存在意義は全く不明である。本研究では、脳で高発現している PCTAIRE ファミリー (CDC2 間でよく保存されている PSTAIRE モチーフが、PCTAIR 配列になっている) に着目して、その神経系での機能を明らかにする事を目的とした。

#### 1. PCTAIRE2 は終末分化したニューロンに発現している。

まずヒト PCAIRE1 のキナーゼ領域をプローブにしたハイブリダイゼーションによってラット視床下部 cDNA ライブラリーから、蛋白質コード領域を含むラット PCTAIRE 1, 2, 3 を単離した。PCTAIRE 1, 2, 3 ともに脳では胎生期には発現せず、生後1週間から発現していた。特に PCTAIRE2 は、生後1週間目から2.5週目にかけて一過性に脳特異的に発現していた。*in situ* hybridization から、PCTAIRE 1, 2, 3 ともに海馬と嗅球の分裂を停止した細胞層に強く発現していた。PCTAIRE2 の神経細胞での局在を調べると、グリア細胞には存在せず、ニューロン特異的に存在しており、神経突起より細胞体に局在していた。また、PCTAIRE2 の免疫沈降物は、ヒストン H1 のセリン、スレオニン残基をリン酸化し、そのキナーゼ活性には活性化因子の存在が示唆された。以上の結果から PCTAIRE2 は、終末分化したニューロン特異的に発現するセリン/スレオニンリン酸化酵素であると考えられる。

#### 2. 新規 PCTAIRE2 結合蛋白質 Trap の同定。

PCTAIRE2 の機能を明らかにするために、酵母 twohybrid system を用いて PCTAIRE2 の結合蛋白質を探索した結果、PCTAIRE2 の N 末端特異的に結合する新規クローンを得た。全長をクローニングしたところ 1113 アミノ酸をコードする新規の分子であり、一次構造上はショウジョウバエの正常な胚発生に必要な分子である tudor と相同性を示す領域 (tudor ドメイン) が 5 つ繰り返されてたおり Trap (Tudor Repeat Associator with PCTAIRE2) と名付けた。両者の結合は融合蛋白質を用いた pull down assay, 及び免疫沈降法によって確認した。Trap は脳と精巣に多

く発現して、胎生期から生後5週にかけて発現が増加しており PCTAIR2 の発現パターンとよく似ていた。初代培養神経細胞での局在は、両者とも細胞質に存在しており、COS7細胞ではミトコンドリアに局在していた。脳内での局在を免疫組織学的手法によって調べたところ、大脳皮質の第V層及び小脳顆粒細胞層と分子層において両者が共発現していた。以上の結果から PCTAIRE 2 と Trap は、神経細胞内で生理的な機能をもって相互作用していると思われる。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文はラットを用いて「細胞分裂を引き起こす分子が、なぜ分裂終了した哺乳類の神経細胞にも発現しているのか」という問題に取り組み、CDK 相同性キナーゼの一つである PCTAIRE の解析を通じて上記の疑問を明らかにしようといわれたものである。まず、ラットの PCTAIRE ファミリーの全てをクローニング、同定することにより PCTAIRE ファミリー間の比較を可能とした。更に、PCTAIRE 2 が終末分化したニューロンに特異的に発現していることを発見した。その上、PCTAIRE ファミリーがセリン/スレオニンキナーゼ活性を持つことを初めて検出し、その活性には活性化因子が必要であることも明かにした。即ち、PCTAIRE 2 のN末端に結合する新規の蛋白質である Trap を発見、同定し、この活性化因子と PCTAIRE 2 とが結合することにより生理的な役割を果たすことを示唆した。また、PCTAIRE 2 と Trap がミトコンドリアの表層に局在する可能性を示し、両者の生理機能解明の手がかりを与えた。このように、本研究は CDK 相同性キナーゼの神経系における生理的意義を明らかにする上で重要な知見を提示しており、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。