Osaka University Knowledge Archive

Title	SCOP, a novel gene expressed in a circadian manner in the rat suprachiasmatic nucleus
Author(s)	清水, 貴美子
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41580
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

氏　　名	清　水　貴美子（しみずきみこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　14417　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 理学研究科生物化学専攻
学　位　論　文　名	SCOP, a novel gene expressed in a circadian manner in the rat suprachiasmatic nucleus （ラット脳視床下部視交叉上核において概日リズムを示す新規の分子，SCOP）
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

明暗周期によって同調される概日リズムの体内時計は，哺乳類では脳視床下部視交叉上核（SCN）に存在することが知られている。SCNによる概日時刻発信の分子機構を解明するために，ラットのSCN内でそのmRNAの発現量が日周変化を示す新規遺伝子の探索を行った。

differential display（RAP）法の結果，主観的明期（CT6）と主観的暗期（CT18）でシグナル強度に変化のある14種のバンドが得られ，主観的明期に低く主観的暗期に高い日周変動を示すクローンを一種類同定した。そのcDNA配列より推定されるアミノ酸配列から，本分子（SCN circadian oscillatory proteinと命名，SCOPと略）が分子量183Kの新規の蛋白質でありPleckstrin homology（PH）domain，Lecine rich repeat（LRR），Leucine zipper（Lzip），Protein Phosphatase 2C（PP2C）-like domain，glutamine（Q）-rich domainを含むユニークな構造を持つ事が明らかとなった。更に，抗体を用いた実験により，1）本蛋白質が中枢神経系に特異的に存在すること，2）発生過程のどの段階においても発現していること，3）脳内の各部位により細胞内局在が異なりSCNや海馬（CA1）領域では主に神経線維に，嗅球では主に核に染色が認められること，などの知見が得られた。

competitive RT-PCR法により常暗（DD）条件下におけるSCN内のSCOPmRNAは主観的明期に減少し主観的暗期に発現が増加した。SCNを含まない視床下部では顕著な日周変化が認められなかった。12時間毎の明暗（LD）条件下でもSCNではSCOPのmRNA量はその発現にDD条件下と同様の日周パターンを示した。次に，western blotting法により検討したSCNにおけるSCOPの蛋白質量はDD条件下においては主観的暗期の終わりをピークとするパターンを示し，LD条件下では，主観的明期の始めをピークとして徐々に減少するパターンを示した。また，SCNを含まない視床下部においてはSCOPの蛋白質量はDD条件下で日周変化を示さず，LD環境下でのみSCNと同様のパターンのリズムを示した。DD条件下でもリズムが発現していること，SCNを含まない視床下部においては，DD条件下で発現量に日周変化が認められないことから，SCOPがSCNにおける内因性の概日リズム発信に関与している可能性が示唆される。

次に，この分子の機能解明による概日リズム発現機構へのアプローチを試みた。SCNではおもに神経線維にimmunoreactivityが認められること及び構造的な特徴より，シグナル伝達分子としての機能に注目した。多数のシグナル伝達分子の存在が確認されているdetergent insoluble menbrane compertment（raft）でのSCOPの有無を検討し，raftでの存在が認められた。また，SCOPがもつLRRは，RasとのinteractionがSCOPが報告されているYeast

Adenylate Cyclase の LRR と consensus 配列が一致しているため，SCOP と Ras との interaction の可能性を調べた。raft 分画において，GST-fusion 蛋白質を用いた pull down assay を行い，SCOPのLRR を含む蛋白質 fragment を用いた場合にのみその結合物の中に K-Ras が認められ，SCOPのLRR と K-Ras との interaction の存在が示唆された。SCOP と K-Ras との相互作用から rhythm の発現へ至る経路は依然として明らかではないが，最近，MAP キナーゼの概日リズム機構への関与を示唆する論文が報告され，SCOP を含めた K-Ras-MAP キナーゼカスケードが概日リズムの時刻発信及び時刻信号の伝達に関与している可能性も考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は哺乳類の概日リズムの体内時計の分子機構を明らかにする目的で，ラットを用いて概日時計の存在する視床下部視交叉上核（SCN）においてその発現に概日リズムを示す遺伝子を differential display 法により検索し，同定した遺伝子の発現産物の機能解析を行った結果を報告するものである。本研究は，ラットの SCN で概日リズムを示す新規の蛋白質（SCOP）が存在することを明らかにした。更に，この分子は，1)1696個のアミノ酸からなり，Pleckstrin homology（PH）domain，leucine rich repeat，leucine zipper，protein phosphatase 2C-like domain，glautmine rich region などの domain 構造を持つこと，2）中枢神経系に特異的に存在すること，3）胎児期から成熟期にわたり一定の発現が認められること，4）脳では嗅球，海馬，梨状葉，小脳，SCN などで発現し，SCN では細胞質や神経線維に局在すること，などを明らかにした。更に，本分子は Raft と呼ばれるコレステロールや糖脂質を豊富に含む細胞内コンパートメントに局在し，細胞内シグナル伝達経路において重要な役割を果たす低分子G蛋白質，K-Ras と結合することも明らかにした。このことは本分子が細胞内シグナル伝達機構に関与することを示唆する。このように，本研究は概日リズムの体内時計による概日時刻発信およびその信号伝達経路を解明する上で重要な知見をもたらしたもので，博士（理学）の学位論文としては十分価値のあるものと認められる。