



Title	ニワトリ除神経脚筋由来神経突起伸長因子の解析
Author(s)	植田, 淳子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43052
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	植 田 淳 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 5 7 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	ニワトリ除神経脚筋由来神経突起伸長因子の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 葛 西 道 生
	(副査) 教 授 村 上 富 士 夫 教 授 倉 橋 隆 客員助教授 田 口 隆 久

論 文 内 容 の 要 旨

坐骨神経を切断したニワトリの脚筋抽出液には、運動神経細胞に対する突起伸長活性が存在し、この活性を阻害する抗体を用いて除神経筋 cDNA library より得られた3つのクローン neurocrescin、MDP77 (muscle derived protein of molecular mass 77k)、MDP62について解析した。大腸菌発現蛋白質は、いずれもニワトリ胚脊髄、終脳の初代解離培養系において、濃度依存的な突起伸長活性を示した。アミノ酸配列には、親水性残基に富み、leucine zipper と広範な coiled-coil 構造を形成しようという共通した特徴を有していた。

neurocrescin は、endocytosis に関与する Rabaptin-5 と88%の相同性があり、COS-7細胞での発現では、分子内の DESD³⁹⁸F で切断された断片が培養上清中に検出できた。切断部位のアミノ酸変異と caspase-3 を用いた in vitro 切断により、この切断は caspase-3 とは異なる caspase 様の酵素によることがわかった。pulse/chase 法では、細胞内に取り込まれた放射活性のうち、28.7%が培養上清へ移行し、免疫組織化学では膜近傍に局在している事からも、細胞外へ分泌される可能性が認められた。

MDP77は新規な配列で、骨格筋と心筋にのみ発現し、特に in situ hybridization では胚齢5日目の myotome における特異的発現が検出できた。免疫組織化学では、golgi 体と membrane ruffling 領域に局在し、細胞骨格系への関与も示唆された。

MDP62は Human T-cell leukemia virus (HTLV) の tax 1 結合蛋白質 TXBP151と約63%、核内蛋白質複合体を形成する Nuclear domain protein (NDP) 52と20~48%の相同性があった。免疫組織化学では、小胞体に局在し、COS-7細胞における pulse/chase 法での解析からも細胞外へ分泌される可能性が見出された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

神経細胞は軸索突起を伸ばし標的細胞とシナプスを形成する。この過程において、標的細胞によって合成される蛋白質が重要なはたらきをしていることが分かっている。その一つに、神経筋接合部において脊髄神経を切断したとき、筋細胞である種の蛋白質が合成され、それが神経の軸索伸張や突起伸張を引き起こすことが知られている。本論文はそのような蛋白質を検索し、その性質を明らかにしたものである。

まず、坐骨神経を切断したニワトリの脚筋抽出液には、運動神経細胞に対する突起伸長活性が存在し、この活性を阻害する抗体を用いて除神経筋 cDNA library より 3 つのクローン neurocrescin、MDP77 (muscle derived protein of molecular mass 77k)、MDP62 を得て、それらを解析した。これらが大腸菌で発現させた蛋白質は、いずれもニワトリ胚脊髄、終脳の初代解離培養系において、濃度依存的な突起伸長活性を示すことを明らかにした。それらのアミノ酸配列には、親水性残基に富み、leucine zipper と広範な coiled-coil 構造を形成するという共通した特徴を有していたが、いずれも分泌に必要なシグナル配列は見られなかった。neurocrescin は、endocytosis に関与する Rab aptin-5 と 88% の相同性があり、COS-7 細胞での発現では、分子内の 358 番目の DESD と F の間で切断された断片が培養上清中に検出できた。切断部位のアミノ酸変異と caspase-3 を用いた in vitro 切断により、この切断は caspase-3 とは異なる caspase 様の酵素によることを示した。pulse/chase 法では、細胞内に取り込まれた放射活性のうち、28.7% が培養上清へ移行し、免疫組織化学では膜近傍に局在している事からも、細胞外へ分泌される可能性が認められることを明らかにした。

MDP77 は新規な配列で、骨格筋と心筋にのみ発現し、特に in situ hybridization では胚齢 5 日目の myotome における特異的発現が検出できた。免疫組織化学では、golgi 体と membrane ruffling 領域に局在し、細胞骨格系への関与も示唆された。

MDP62 は Human T-cell leukemia virus (HTLV) の tax 1 結合蛋白質 TXBP151 と約 63%、核内蛋白質複合体を形成する Nuclear domain protein (NDP) 52 と 20~48% の相同性があった。免疫組織化学では、小胞体に局在し、COS-7 細胞における pulse/chase 法での解析からも細胞外へ分泌される可能性が見出された。

以上のように、本論文は骨格筋で合成される神経の突起伸張を誘導する蛋白質についての基礎的な研究を行い、シナプス形成の機構に関して新しい知見を与えたものであり、博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。