Osaka University Knowledge Archive

Title	Function of SCOP in the rat brain
Author(s)	淨住, 大慈
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43604
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

【3】

氏　　名	浄住大慈（きよずみだいじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　16522　号
学位授与年月日	平成13年9月26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	Funciton of SCOP in the rat brain （ラット脳におけるSCOPの機能）
論文審査委員	（主査） 教　授　永井　克也 （副査） 教　授　関口　清俊　　教　授　岡田　雅人

論文内容の要旨

地球上のほとんどの生物は、その生命現象に24時間周期の自己発信性の概日リズムを示し、生物時計の仕組みを持つ。申請者の所属する研究室では、ラットでの生物時計中枢である脳視床下部視交叉上核（SCN）において、その発現が日周変動する脳特異的な遺伝子産物、SCN Circadian Oscillatory protein（SCOP）を見いだした。申請者はこの遺伝子産物の生理的役割を明らかにすることを目的に、以下の検討を行った。

まず抗SCOP抗体を作成し、初代培養ニューロン及びアストロサイトの抽出物についてWestern分析を行ったところ、SCOPはニューロンに特異的に発現していることが明らかとなった。また、免疫組織化学的染色により、1）SCOPはSCNに限らず、脳の広範囲なニューロンで発現していること、2）胎生期には細胞膜付近に、生後1週齢までは、神経線維を含む部分にそれぞれ染色像が得られたが、8週齢では細胞体の細胞質部分が強く染色され、神経線維の染色はほとんど認められないことが明らかとなった。以上の事実から、SCOPの機能における、細胞内での分布の重要性が示唆された。

次にSCOPがどのような細胞内分布を取りうるのかを、培養細胞を用いて検討した。SCOPの断片と緑色蛍光蛋白質（GFP）との種々の融合蛋白質をCOS7細胞に発現させた場合、1）SCOPの全長では細胞質に留まるのに対し、プレクストリン相同（PH）ドメインを含む短い断片は細胞膜へ局在すること、2）PHドメインが存在する場合でも、フラグメントサイズが大きくなると細胞質に留まることなどが明らかとなった。このことから、SCOPは潜在的に膜移行する能力を有するが、コンホメーションにより局在が制御されている可能性が示唆された。

SCOPにはロイシンリッチリピート（LRR）が存在するが、LRRを有する蛋白質のいくつかはRas-MAPK経路に関与することが知られており、in vitroにおいてはSCOPとRasが結合することが認められた。そこでSCOPを293T細胞に発現させ、FGFの効果を検討したところ、FGF刺激によるMAPKの活性化がSCOPの発現により抑制されることが明らかとなった。この効果は用量依存的で、刺激後30分の時点で最大約30%の抑制効果を示した。

Ras-MAPK経路は、細胞膜上でのシグナル伝達であるので、以上の結果より、SCOPは細胞内でRas-MAPK経路を抑制するものと考えられる。神経系でのMAPK経路は、神経回路形成、記憶など広範囲な現象に関与しており、またSCNでは日周性のMAPKの活性化が報告されている。以上の事実は、SCOPがMAPKの活性を調節することで神経細胞のシグナル伝達に関与し、神経機能を調節する可能性を示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

本論文はラットの生物時計関連蛋白質SCOPが、細胞内シグナル伝達のRas-MAPK経路を抑制すること、Ras-MAPK経路の抑制にその膜移行が重要であること、SCOPによるRas-MAPK経路の抑制が生物時計におけるMAPK活性化の概日リズム形成を説明すること、などを明らかにした。よって、本研究は時計機構を始め脳神経機能のシグナル伝達に関する重要な知見を提出しており、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。