

Title	Ankycorbin : a novel actin cytoskeleton-associated protein
Author(s)	彭, 英峰
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43698
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	彭英峰
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16822 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Ankycorbin: a novel actin cytoskeleton-associated protein (アンキコルビン：新規アクチン細胞骨格関連蛋白質)
論文審査委員	(主査) 教授 高井 義美 (副査) 教授 門田 守人 教授 米田 悦啓

論文内容の要旨

【目的】

Syntaxin は脳のシナプスに存在し、神経伝達物質の放出反応を制御している。最近、私が所属する研究室では Syntaxin に結合する新規の蛋白質 Tomosyn を見い出している。Tomosyn は Syntaxin に結合することにより、Syntaxin による神経伝達物質の放出反応を制御している。Syntaxin は臓器普遍的に発現しているが、Tomosyn は脳特異的に発現している。したがって、臓器普遍的に発現する Tomosyn のアイソフォームの存在が示唆される。

本研究では Tomosyn のアイソフォームの同定を試み、新規蛋白質 Ankycorbin を単離しその性状解析を行った。その結果、Ankycorbin は Tomosyn と一次構造上相同性が認められなかったが、アクチン細胞骨格と密接に関係する蛋白質であることを明らかにした。

【方法ならびに成績】

1) Ankycorbin の単離と同定

ラット肝臓の細胞膜分画において、抗 Tomosyn 抗体で検出される SDS-PAGE 上125kDa の蛋白質 (p125) を見いだした。この分画から、種々のカラムクロマトグラフィーを用いて p125を精製し、その部分アミノ酸配列を決定した。このアミノ酸配列にもとづきプローブを作製し、マウス腎臓の cDNA ライブラリーをスクリーニングし、p125のマウス cDNA を単離した。p125は979アミノ酸よりなる分子量108,847の蛋白質であり、N末端にアンキリンリピート、C末端にコイルドコイルドメインを有した。しかし、p125は Tomosyn と一次構造上相同性が認められなかった。この p125を Ankycorbin (Ankyrin repeat-and coiled-coil structure-containing protein) と命名した。

2) Ankycorbin の組織分布と細胞内局在

Ankycorbin の組織分布をノーザンプロットにより検討した。Ankycorbin は、検討した全ての組織 (心、脳、胎盤、肺、肝、骨格筋、腎、小腸) に発現を認めた。Ankycorbin の細胞内局在を免疫染色により検討した。Ankycorbin は、マウス上皮細胞 (MTD-1A 細胞) においては細胞間接着に局在し、マウス線維芽細胞 (NIH3T3細胞) においてはストレスファイバーに局在していた。マウスの小腸においては、Ankycorbin は吸収上皮細胞の頂端面と側面に局在していた。また、マウスの肝臓においては、Ankycorbin は細胆管に局在していた。さらにマウスの小腸および肝臓の免疫電顕では、Ankycorbin は、小腸吸収上皮細胞ならびに肝細胞の terminal web を形成するア

クチン細胞骨格と細胞間接着を裏打ちするアクチン細胞骨格に濃縮していた。以上の結果より、Ankycorbinはアクチン細胞骨格と密接に関係する蛋白質であることが明らかになった。

3) Ankycorbin の F-アクチン結合活性の検討

Ankycorbin が F-アクチンに直接結合するかを検討した。既知の F-アクチン結合蛋白質である Neurabin- I が F-アクチンと共同沈降される条件下において、Ankycorbin は F-アクチンと共同沈降されなかった。

【総括】

私は、臓器普遍的に発現する Tomosyn のアイソフォームの同定、単離を試み、新規の分子 Ankycorbin を見だし、性状解析を行った。Ankycorbin は Tomosyn と一次構造上相同性がなく、アクチン細胞骨格と密接に関係する蛋白質である。しかし、本蛋白質は直接 F-アクチンとは結合しなく、何らかの F-アクチン結合蛋白質を介してアクチン細胞骨格と結合し、アクチン細胞骨格の制御に関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

細胞内小胞輸送は、細胞の運動・極性形成・増殖等の重要な細胞機能と密接に関連しており、また、細胞内小胞輸送が特殊に分化したものが、神経伝達物質の放出反応である。これまで、神経伝達物質の放出反応を制御する分子が多数同定されているが、これらの多くは非神経細胞にも見出されており、細胞内小胞輸送を制御することが明らかとなっている。Tomosyn は、神経伝達物質の放出反応を制御する重要な分子であり、脳特異的に発現している。本申請者は、本研究において、非神経細胞に発現する Tomosyn のアイソフォームの同定を試み、新規蛋白質の Ankycorbin を単離し、その性状を解析した。その結果、Ankycorbin は Tomosyn と一次構造上相同性は認められなかったが、臓器普遍的に発現し、アクチン細胞骨格と密接に関連することを明らかにした。Ankycorbin と Tomosyn との関係は明らかになっていないが、両蛋白質は 3 次構造上相同性を有している可能性があり、Ankycorbin は細胞内小胞輸送とアクチン細胞骨格を連結させ、重要な細胞機能に関与していることが期待される。

このように、本研究の実験結果自体の意義もさることながら、今後の発展性にも期待できるものがあり、生命科学への貢献度が極めて高い研究であるといえる。したがって、学位授与に十分値するものと考えられる。