The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A chromodomain-containing nuclear protein, MRG15 is expressed as a novel type of dendritic mRNA in neurons
Author(s)	松岡, 由里子
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43871
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【5】

氏　　名	松　岡　由里子（まつおか　ゆりこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　17222　号
学位授与年月日	平成14年5月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学　位　論　文　名	A chromodomain-containing nuclear protein, MRG15 is expressed as a novel type of dendritic mRNA in neurons （樹状突起局在化mRNAにコードされているクロモドメイン蛋白質、MRG15の解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　米田　悦啓 （副査） 教　授　内山　安男　　教　授　遠山　正彌

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

近年、神経細胞におけるシナプスの可塑性発現には、シナプス/樹状突起での局所的な蛋白質合成が必要であることが明らかとなり、このために局所的に翻訳・合成される蛋白質の解析は、シナプス可塑性のメカニズムを探る上で重要な手がかりになると考えられる。

局所的蛋白質合成が行われるためには、mRNA がシナプス/樹状突起に運ばれていることが前提である。神経細胞において多くの mRNA は細胞体にとどまっているが、ある一部の mRNA はシナプス/樹状突起にも比較的高いレベルで局在化している。例えば、樹状突起に局在化している代表例として、カルモジュリン依存性蛋白質リン酸化酵素等があげられ、mRNA 局在化及び翻訳制御のメカニズムが明らかになりつつある。しかし、シナプス可塑性発現には、シナプス前後膜の相互作用やその後のシグナル伝達等の様々な現象が関わっているため、シナプス/樹状突起に局在化し翻訳される mRNA も多種類であることが予想される。そこで私は「mRNA としてシナプス/樹状突起まで輸送され、かつ局所的な翻訳制御を受ける蛋白質の中に、シナプス可塑性発現の key molecules が含まれているはずである」との仮説に基づき、マウス小脳シナプトソームを用いてそれら mRNA の同定を試み、また、それら mRNA が神経細胞の中でどのような局在をとるかを調べ、はたして局所的蛋白質合成を担いうるかどうかを解析することを目的とした。

【方法ならびに成績】

①まず、マウス（C57BL/6）の小脳シナプトソームを調製（シナプス後膜のマーカー蛋白質である PSD95 に対する抗体で確認）し、この画分に含まれていた約 100 種類の mRNA の解析を行った。それら mRNA の中で、翻訳制御配列である cytoplasmic polyadenylation elememt（CPE）に似た配列を有するものを 10 種類見い出した。

②次に、CPE 様配列を持つ個々の mRNA の局在をマウス脳切片を用いた *in situ* bybridization 法により検討した。その結果、ある mRNA が一部の小脳プルキンエ細胞の proximal dendrites 及び一部の大脳皮質第 5 層の錐体細胞の apical dendrites に局在することがわかった。この mRNA はヒト mortality factor 4-related gene15（以下 MRG15）

マウスホモログをコードしており、ヒトとマウスとでそのアミノ酸配列は100%一致し、クロマチン高次構造を制御すると考えられているクロモドメインを有していることがわかった。興味深いことに錐体細胞におけるこの mRNA の局在は大脳皮質の中で領域特異性を示した。

③最後に、抗 MRG15 抗体を作製・精製し、特異性を確認後、その抗体を用いて MRG15 蛋白質の局在をマウス脳切片で検討した。その結果、プルキンエ細胞、錐体細胞両者ともに、細胞核のみならず、細胞体全体及び樹状突起にもシグナルが検出された。一方、神経細胞以外の細胞、例えば、HEK293T 細胞で MRG15 を強制発現させた場合、この蛋白質は細胞核のみに局在した。

【総括】

マウス小脳シナプトソーム画分より約 100 種類の mRNA を分離し、検討した。その結果、クロモドメインを持つ MRG15 の mRNA がマウスの小脳プルキンエ細胞の一部や大脳皮質第 5 層錐体細胞の一部の樹状突起に局在化することを見い出した。なお錐体細胞での局在は、大脳皮質の領域により異なることがわかった。

また MRG15 蛋白質は、プルキンエ細胞や錐体細胞において、細胞核の他に、細胞体全体及び樹状突起にも局在化した。一方、神経細胞以外の細胞、例えば、HEK293T 細胞で MRG15 を強制発現させた場合、この蛋白質は細胞核のみに局在した。

以上の結果は、MRG15 の mRNA 及び MRG15 蛋白質が、神経活動等の神経細胞の生理的状態に依存して局在を変化させることを示唆しており、MRG15 蛋白質は、シナプス/樹状突起と細胞核間の情報伝達に関与している可能性がある。

論文審査の結果の要旨

本研究は、「mRNA としてシナプス/樹状突起まで輸送され、かつ局所的な翻訳制御を受ける蛋白質の中に、シナプスの可塑性発現の key molecules が含まれているはず」との仮説をたて、それに基づき、マウス小脳シナプトソーム画分に含まれる mRNA 群に着目・解析した研究である。

この研究により、マウスシナプトソーム画分から、クロマチン高次構造を制御すると考えられているクロモドメインを有す蛋白質 MRG15 をコードしている mRNA を同定した。MRG15 mRNA はこれまで神経細胞に存在することは知られておらず、今回の報告でマウスの小脳プルキンエ細胞の proximal dendrites 及び大脳皮質錐体細胞の apical dendrites に局在することを初めて示した。興味深いことに錐体細胞におけるこの mRNA の局在は大脳皮質の中で領域特異性があった。さらに本研究は、神経細胞以外の細胞、例えば HEK293T 細胞で、MRG15 蛋白質は細胞核のみに局在化することを示す一方、神経細胞においてこの蛋白質は、細胞核の他に、樹状突起にも局在化することを証明し、樹状突起での局所的蛋白合成が行われる可能性を示唆した。

以上の結果は、MRG15 mRNA 及び MRG15 蛋白質が神経細胞の生理的状態に依存して局在を変化させることを示唆しており、MRG15 蛋白質が、シナプス/樹状突起と細胞核間の情報伝達に関与している可能性が高いと考えられる。このような局在を示す蛋白質を見い出した本研究は、シナプス可塑性のメカニズムの解明に有用な情報を提供する意義深いものである。

以上の点から、本研究は学位の授与に値すると考えられる。