OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	THE DISTRIBUTION AND CHARACTERIZATION OF ENDOGENOUS PROTEIN ARGININE N-METHYLTRANSFERASE 8 IN MOUSE CNS
Author(s)	幸坂, 葵
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54179
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

【31】

氏名	幸坂 葵（こうさか あおい）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 23600 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体生理医学専攻
学位論文名	THE DISTRIBUTION AND CHARACTERIZATION OF ENDOGENOUS PROTEIN ARGININE N-METHYLTRANSFERASE 8 IN MOUSE CNS （マウスの中枢神経におけるタンパク質メチル化酵素PRMT8の解析）
論文審査委員	（主査） 教授 遠山 正彌 （副査） 教授 米田 悦啓　教授 島田 昌一

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

タンパク質のアルギニンのメチル化は翻訳語修飾の一つであり、転写調節や翻訳の制御、タンパク質同士の相互作用の調節などに関与している。アルギニンのメチル化はProtein Arginine N-methyltransferas（PRMT）という酵素によって触媒され、現在までに1から11までのサブタイプがクローニングされている。

PRMT8はメチル化酵素において保存されたモチーフ配列を基にデータベースより発見されたタンパク質アルギニンメチル化酵素である（Lee J et al., 2005）。この酵素のmRNAは神経系特異的に発現していること、またN末端側がミリストイル化されることにより細胞膜に移行することが報告されている。また、サブタイプの存在比率の8割以上を占めるPRMT1とホモロジーが高く、ヘテロダイマーを形成していることがRNAレベルで報告されているが、その基質や機能に関しては全く不明である。本研究では中枢神経におけるPRMT8の機能を明らかにするため、脳の発現分布や細胞内局在などの検討を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

まず、PRMT8に対するポリクローナル抗体を作製し、以下の実験で用いた。ウエスタンブロットによる解析の結果、PRMT8は脳と脊髄で発現が認められたが、他の臓器では発現していなかった。またPRMT8は胎生期ではほとんど発現が見られず、生後14日目で発現がピークに達し、その後も発現し続けることが明らかとなった。次に免疫組織化学法による解析の結果、PRMT8は神経細胞でのみ発現が見られた。また、PRMT8の脳内分布を検討した結果、脳のほとんどの部位で発現しており、すでに当研究室で報告されているin situ hybridizationの結果と一致した。さらに、PRMT8はミリストイル化モチーフを持ち細胞膜に局在することが報告されているが、本研究では神経細胞の核に局在していることが明らかとなった。そこで、ミリストイル化モチーフを持つ、持たない配列のPRMT8のベクターを作製し、PC12細胞に強制発現させて、免疫染色法とウエスタンブロット法を用いて解析を行った。免疫染色の結果から、ミリストイル化モチーフを持つPRMT8は分化前、分化後も細胞膜に局在することが分かった。一方、ミリストイル化モチーフを持たないPRMT8の発現は未分化の状態では細胞全体でみられ、分化誘導をかけることによってその局在は核に移行した。内在性のPRMT8の発現も生後0日目の脳では細胞全体で見られ、生後7日、14日目になるにつれて核へ局在が移行しており、培養細胞で見られたミリストイル化モチーフを持たないPRMT8の局在変化と類似していた。次にウエスタンブロット法によりそれぞれのベクターを強制発現した細胞からタンパク質を回収し、内在性PRMT8のバンドの高さと比較した。すると、2本の内在性PRMT8のバンドのうち、メインとなるバンドはミリストイル化モチーフを持たない配列のPRMT8と高さが一致した。このことから、神経細胞の核で発現しているPRMT8はミリストイル化を持たない配列であることが示唆された。

〔 総 括 〕

これまでの報告と一致して、PRMT8は神経細胞のみで発現していることが明らかとなった。また、脳のほとんどの部位で発現していることから、神経細胞特異的な機能に何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。また、PRMT8は細胞の核で発現していることから、他のサブタイプが持つ転写調節機能などに関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文では、今まで全く解明されていなかった中枢神経におけるPRMT8（protein arginine N-methyltransferase 8）の発現分布や細胞内局在を明らかにした。PRMT8は神経細胞特異的に発現しており、また脳のほとんどの部位で発現が認められたため、神経細胞特異的な機能に何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、PRMT8は細胞の核で発現していることから、他のサブタイプが持つ転写調節機能などに関与している可能性が示唆された。以上のことから、本論文はこれまで全く解明されていなかった中枢神経系におけるタンパク質のメチル化の意義を解明する上で重要な研究であり、学位に値すると認める。