

Title	Architecture of multisynaptic pathways from V1 to MT and V4 of macaques
Author(s)	二宮, 太平
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/57745">https://hdl.handle.net/11094/57745</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	めが 鹿 良 亮
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 23949 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 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Functional analysis of cold shock proteins from an extreme thermophile, Thermus thermophilus HB8 (高度好熱菌由来cold shock proteinの機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀 (副査) 教授 河村 悟 教授 小倉 明彦 教授 谷澤 克行

### 論文内容の要旨

生物は様々な環境の変化で生じるストレスに適應している。このようなストレスに対して、生物はタンパク質の発現レベルを変化させ、適應している。低温環境において発現量の増加するタンパク質として最初に同定されたのが、cold shock protein (CSP) であり、そのホモログは多くの生物種で複数同定されている。しかし、アミノ酸配列が相同でも、すべて低温時に発現量が上昇するわけではない。例えば、栄養枯渇時に発現量が上昇するものや、常時発現レベルの高いCSPもあり、様々なタイプのCSPが含まれている。CSPは2つのRNA binding motifを持ち、mRNAの二次構造形成を阻害するRNA chaperoneとして働くことが知られている。高度好熱菌にはTTHA0175 (ttCSP1) とTTHA0359 (ttCSP2) という2種類のCSPが存在する。この数はこれまでに詳細に研究されている大腸菌や枯草菌と比べると少なく、複雑な機能相関がないと考えられるため、CSPの細胞内機能の解析に適していると考えられる。

DNA マイクロアレイにより mRNA の発現量を解析したところ、ttCSP1 は恒常的に発現しているのに対し、ttCSP2 は低温によって発現量が上昇し、低温ストレス応答に直接関与していることが示された (図)。このことは ttCSP1 が通常の生育条件下でも細胞内で重要な役割を果たすが、ttCSP2 は低温条件でのみ、その機能を発現することを示唆した。低温条件で ttCSP2 の発現が上昇するメカニズムを解明するため、ttcsp2 mRNA の転写開始点を決定し、mRNA の 5'-非翻訳領域の二次構造を予測したところ、70°C と 45°C で二次構造形成のパターンが ttcsp2 mRNA 特異的に異なることがわかった。さらに、高度好熱菌の endoribonuclease (TTHA0252) 破壊株のマイクロアレイデータから ttcsp2 mRNA の存在量を調べたところ、野生株に比べて多いことがわかった。このことから、ttcsp2 mRNA は細胞の温度変化を感知するセンサーとして働くと同時に、70°C では TTHA0252 によって分解制御されている可能性が示唆された。つまり、普段は TTHA0252 によって厳密に制御されているが、低温環境下ではその制御を逃れて発現し、機能すると考えられる。次に、ttcsp1、ttcsp2 それぞれ単独の破壊株 ( $\Delta ttcsp1$ ,  $\Delta ttcsp2$ ) と二重破壊株 ( $\Delta ttcsp1/2$ ) を作製し、その生育を 70°C と 45°C で調べた。その結果、70°C では、全ての株が同様の生育曲線を描き、45°C では、 $\Delta ttcsp1$ ,  $\Delta ttcsp2$  と野生株がほとんど変わらない生育を示したのに対して、 $\Delta ttcsp1/2$  では他の 3 つの株と比較して大きく生育が悪くなることが明らかになった。このことは、低温環境での生育には ttCSP1 と ttCSP2 の両方が必要であり、どちらか一方を破壊してもその機能を補うことができることが示唆された。さらに、精製した ttCSP1 と ttCSP2 を用いて DNA (RNA) 結合能について調べたところ、ttCSP1, ttCSP2 とともに single-stranded DNA (ssDNA) や ssRNA に対して強い親和性を示した。

ゆえに、ttCSP1 と ttCSP2 が機能する条件は異なっており、ttCSP1 は常時発現して RNA chaperone として機能しているが、ttCSP2 は細胞が低温に置かれたときのみ、自らの mRNA を低温センサーとして低温を感知し、安定な状態になることで mRNA 量を向上させ、翻訳されるタンパク質の量を調節していると考えられる。低温環境下では、mRNA の二次構造形成の頻度が上昇することから、ttCSP2 は増加した mRNA の二次構造の解離を促進し、ttCSP1 の補助的な役割を担っていると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

生物の低温適應機構の手掛かりを得るために、低温適應への関与が示唆されている高度好熱菌の ttCSP1 および ttCSP2 蛋白質を研究対象として、遺伝子発現解析や蛋白質機能の解析を行った。DNA マイクロアレイを利用して、細胞内の全 mRNA の発現量を調べたところ、ttCSP1 は恒常的に高発現していたが、ttCSP2 は低温変化で発現が上昇していた。ttCSP2 の mRNA の転写開始点を決定して、5'-非翻訳領域の二次構造を予測するとともに、遺伝子破壊株の全 mRNA 発現量を調べた。さらに、ttCSP1 や ttCSP2 と合成オリゴヌクレオチドとの親和性を解析したところ、いずれの ttCSP もピリミジン含量の多い配列に対して高い親和性を示した。これらの結果から、CSP は RNA シャペロンとして働くことによって mRNA の機能を調節していることが示唆された。これらの成果は、生物の低温適應の大きな手掛かりを与える結果であり、博士(理学)の学位に値すると認める。

論文内容の要旨

The primate visual system is characterized by two principal rules: parallel (dorsal and ventral) pathways and hierarchical signal processing. The dorsal cortical areas, such as the middle temporal area (MT), receive inputs predominantly from the magnocellular (M) layers of the lateral geniculate nucleus (LGN) through layer 4C $\alpha$  of the primary visual cortex (V1). The ventral cortical areas, such as visual area 4 (V4), receive inputs mainly from the parvocellular (P) layers of the LGN via layer 4C $\beta$  of V1. To directly evaluate multisynaptic pathways from V1 to MT and V4 and, also, the involvement of M and P inputs in the dorsal and ventral pathways, the patterns of retrograde transneuronal labeling in V1 and the LGN were analyzed after rabies virus injections into MT and V4 of macaque monkeys. When neuronal labeling in layer 4C (major LGN input layer) of V1 was compared, layer 4C $\alpha$  labeling from MT occurred after 3 days postinjection (second-order labeling) whereas layer 4C $\beta$  labeling from V4 appeared after 4 days postinjection (third-order labeling). At the same time, rabies injections into MT produced transneuronal labeling in the LGN as second-order neurons while V4 injections yielded LGN neuron labeling as third-order neurons. The labeled neurons in the LGN were distributed in both the M and the P layers. Neuronal labeling in layer 4C is likely the result of retrograde transneuronal tracing via layer 4B of V1 for the MT-injection case and via layer 2/3 of V1 for the V4-injection case. The present results suggest that MT and V4 may be posited at different hierarchical ranks in signal processing in the dorsal and ventral pathways by way of the LGN and layer 4C of V1. Moreover, our data indicate that there may be another pathway linking the LGN and MT or the LGN and V4. It is likely that converging M and P inputs from the LGN may contribute to signal processing in these “short-cut” pathways.

論文審査の結果の要旨

霊長類の脳における視覚情報処理は1次視覚野 (V1) から始まり、その後背側、腹側2つの視覚路に分かれると考えられている。V1には4C $\alpha$ 層、4C $\beta$ 層という異なる入力を受ける2つの層があり、視覚情報は主にこれらの層からV1内部の回路を経由して背側、腹側路へと伝達され

る。しかし、これらの入力層の視覚路への寄与を解剖学的に直接検証する事は難しかった。今回申請者は、注入後の生存期間に依存して越シナプ斯的に神経細胞をラベルする狂犬病ウイルスをマカクザルのMT、4次視覚野 (V4) にそれぞれ注入し、V1の入力層からの多シナプス性入力様式を解析した。MTとV4はそれぞれ背側路、腹側路に属し、階層構造上同位置にあると考えられている。MTに注入した標本では3日でV1の4C $\alpha$ 層に、V4に注入した標本では4日でV1の4C $\alpha$ 層、4C $\beta$ 層にそれぞれラベルが観察された。これらの結果はMTとV4でV1の入力層からの寄与が異なる事と、MTに比べV1からV4へと信号が届くまでにより多くの神経連絡を必要とする事を示唆する。上記の結果は霊長類の視覚システムの構造に新たな知見を与えるものであり、本論文は学位に値すると認める。

[ 94 ]

氏名	たなか しんご 田 中 慎 吾
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 2 3 9 5 1 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 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Neural Computation of Object Size in Monkey Visual Area V4 (サル視覚皮質V4野における物体サイズの計算)
論文審査委員	(主査) 教 授 藤 田 一 郎 (副査) 教 授 大 澤 五 住 教 授 小 倉 明 彦 准 教 授 七 五 三 木 聡

論文内容の要旨

The perceived size of an object remains relatively stable despite changes in the size of its retinal image that accompany changes in distance from the observer. This perceptual phenomenon is known as size constancy. The brain uses both distance and retinal image size to estimate the size of objects. In spite of the importance of object size information for object recognition, there has been few studies on the neural representation of object size in the cerebral cortex.