

様式 Z - 7

## 平成27年度科学研究費助成事業 実績報告書 (研究実績報告書)

1. 機関番号 

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 基盤研究(B) (一般) 4. 研究期間 平成25年度～平成28年度
5. 課題番号 

2	5	2	9	0	0	2	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 認知機能に関する神経可塑性プロテアーゼ基質の網羅的探索とそのシグナル系の解析

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 1 2 7 2 3 3	シオサカ サダオ 塩坂 貞夫	バイオサイエンス研究科	教授

## 8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

## 9. 研究実績の概要

1、我々はDPSI法と名付けた方法により細胞外セリンプロテアーゼ Neuropsinの海馬における基質として神経栄養因子 Neuregulin-1の同定に成功した。この方法を応用するために組織プラスミノゲンアクティベータのLoopG (C506S)を変異させたExpression vectorを作成し、これをCOS細胞に組み込んだ。同様の方法にてtPAC506Sを作成し、これは実際に市販されているリコンビナントplasminogenと結合することを示した。このことは従来いわれてきたものの確認されていなかった現象、すなわちtPAがplasminogenを直接結合して、切断することを直接に示したものである。このことを踏まえ、今後、変異tPAに結合するたんぱく質を海馬ホモジェネートから同定する。

2、これまで田村ら(J. Neurosci. 32, 12657, 2012)が同定した変異ニューロプシン結合物の解析をさらに進めるため、NRG1に絞り、海馬および前頭皮質のNRG1の分布を検証した。NRG1はプロセシングを受けて抑制性ニューロンを亢進させるため、シナプトソーム分画など細胞分画を行いウエスタンブロットにより検証したところ濃い163Kd(mature NRG1)バンドおよび、40, 34および30kDaの薄い13つのバンドを得た。カイニン酸を腹腔内に注射し大脳皮質、海馬でのArcの増加によって神経活動の亢進を確認したサンプルにおいて、上記シナプトソームに濃縮するバンドの増強を認め、特に田村が見出した34Kdの著しい濃縮を観察した。これはニューロプシンによる切断前の断片と考えられ神経活動の亢進によって前シナプスマトリクスに集積しているものと考えられた。

## 10. キーワード

- (1) プロテアーゼ (2) 組織プラスミノゲンアクティベータ (3) ニューロプシン (4) プラスミン  
 (5) DPSI法 (6) (7) (8)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

( 1 / 4 )

## 11. 現在までの進捗状況

(区分)(3) やや遅れている。

(理由)

当初予定していた未知結合たんぱく質との結合実験を未だ行っていない。これは担当していた学生の就職や、研究代表者の定年退職などが重なったためである。今後の研究推進方針に示したように新たに旭川医科大学の吉田成孝教授を共同研究者に加えることにより遅れをとり戻す計画である。

## 12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

結合するたんぱく質のウェスタンバンドが神経活動に有意かどうかを調べるのが重要である。その意味でカイニン酸投与動物の脳組織からシナプトソーム分画など細胞分画を行いウエスタンプロットにより検証した去年度の成果は未同定のたんぱく質にも応用できると考えられる。したがって、今年度もこの方法を行い有意な結合たんぱく質をえる努力を行う。今年度は以前に共同研究を行った旭川医科大学の吉田成孝教授を新たに加え、ウェスタン法によって得られたたんぱく質のバンドの同定を試みる。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

## 13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件/うち査読付論文 計(0)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
オープンアクセス						

(学会発表) 計(0)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所	

(図書) 計(1)件

著者名		出版社		
Ishikawa Y and Shiosaka S		Springer (Sreedharan Sajikumar Editor)		
書名		発行年	総ページ数	
Synaptic Tagging and Capture		2015	263 (45-59)	

## 14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(課題番号: 25290022)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

## 15. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

## 16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

## 17. 備考

--