

論文内容の要旨

申請者氏名 KAEWKASCHOLKUL NAPOL

神経回路網の形成のためには、神経細胞の軸索が脳内の軸索ガイダンス分子に誘導されて正しい標的細胞に向かって伸長しなければならない。神経軸索先端の成長円錐では、アクチン線維が重合・脱重合を繰り返し進行方向に対して逆行性の移動をする。これまでに、Shootin1a が逆行性移動をするアクチン線維と細胞接着分子 L1 を連結することにより軸索伸長に必要な推進力を生み出すクラッチ分子として機能することが報告された。また、誘引性軸索ガイダンス分子 Netrin-1 の刺激により Shootin1a の Ser101 および Ser101 がキナーゼ Pak1 を介してリン酸化を受け、アクチン線維と L1 の連結を強めて軸索伸長のための推進力を促進することが示された。さらに、Netrin-1 の濃度勾配刺激により成長円錐内で非対称に生じる Shootin1a のリン酸化亢進が引き起こされ、成長円錐が Netrin-1 の濃い方向に向かって移動することが解った。タンパク質は、キナーゼによるリン酸化とフォスファターゼによる脱リン酸化によってリン酸化レベルが調節されるが、これまでのところ Shootin1a の脱リン酸化を担うフォスファターゼは不明である。

そこで申請者は、本研究で Shootin1a を脱リン酸化するフォスファターゼの同定とその機能解析を行った。まず、Shootin1a を脱リン酸化するフォスファターゼをスクリーニングするために、種々のフォスファターゼ阻害剤で処理した培養海馬神経細胞の Shootin1a のリン酸化レベルをウエスタンブロット法で解析したところ、PP1/PP2A の阻害剤であるカリクリン A あるいはオカダ酸で処理をすると Shootin1a の Ser101 および Ser101 のリン酸化レベルが有意に上昇することが解った。一方、PP2A の阻害剤 Endothall、PP2B の阻害剤 Deltametrin、あるいは PP2C の阻害剤 Sanguinarine chloride による処理では、Shootin1a のリン酸化レベルに変化が見られなかった。そこで、精製したリン酸化 Shootin1a を *in vitro* において PP1 と反応させたところ Shootin1a の脱リン酸化が起こった。また、COS 細胞に Shootin1a と PP1 を発現させたところ PP1 による Shootin1a の脱リン酸化が検出された。さらに、免疫細胞染色の結果から、PP1 が成長円錐において Shootin1a と共局在をするデータが得られた。以上の結果より、PP1 が Shootin1a を *in vitro* および細胞内において脱リン酸化することが明らかとなった。

さらに、PP1 を培養海馬神経細胞に過剰発現させると、Netrin-1 の濃度勾配刺激によって成長円錐内で非対称に生じる Shootin1a リン酸化の亢進が見られなくなり、Netrin-1 の濃い方向に向かった成長円錐の移動も抑制された。以上の結果から、PP1 が神経成長円錐内において Shootin1a を脱リン酸化し、その脱リン酸化による活性の制御が Netrin-1 を介した軸索ガイダンスに重要な役割を果たすことが示唆された。

やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

