

Molecular cloning of a neural
voltage-dependent calcium channel
[1]-subunit from squid (*Loligo bleekeri*
keferstein) optic lobe and an
immunohistochemical analysis with
site-directed antibody

著者	Kimura Tadashi
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (A), no. 1801, 1998.3.23
発行年	1998
URL	http://hdl.handle.net/2241/5359

氏名(本籍)	木村忠史(神奈川県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第1,801号		
学位授与年月日	平成10年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	Molecular Cloning of a Neural Voltage-dependent Calcium Channel α 1-Subunit from Squid (<i>Loligo bleekeri keferstein</i>) Optic Lobe and Immunohistochemical Analysis with Site-Directed Antibody (ヤリイカ神経系特異的電圧依存性カルシウム・チャンネルのクローニングと部位特異的抗体を用いた免疫組織化学的解析)		
主査	筑波大学教授	理学博士	齋藤建彦
副査	筑波大学教授	農学博士	田仲可昌
副査	筑波大学教授	農学博士	平林民雄
副査	筑波大学助教授	医学博士	中谷敬

論文の内容の要旨

神経細胞は脳の複雑な神経回路網の演算素子として機能している。神経細胞の持つ機能タンパク質の中で、電圧依存性カルシウム・チャンネルは、膜電位変化に伴いカルシウム・イオンを細胞内へ流入させることにより、様々な細胞機能の発現に重要な役割を果たしており、特に、中枢神経系では化学シナプスにおける神経伝達物質の放出の鍵タンパク質として機能していると考えられている。このタンパク質の一次構造は、分子生物学的手法により主に脊椎動物で明らかにされてきている。一方、無脊椎動物においては、一部の昆虫でその構造が明らかにされつつあるが、いまだ十分に解明されるまでにはいたっていない。このタンパク質の構造と機能を明らかにすることは神経回路網の働きを理解する上に重要である。著者は無脊椎動物のヤリイカを用い、その中枢神経系から電圧依存性カルシウム・チャンネル遺伝子をクローニングし、チャンネル・タンパク質の一次構造とその組織分布を明らかにすることを試みた。

脊椎動物の電圧依存性カルシウム・チャンネル遺伝子を参考にしてPCR法によりプローブを得た。これを用いてヤリイカの電圧依存性カルシウム・チャンネル遺伝子を単離した。この電圧依存性カルシウム・チャンネル(SQCC1)遺伝子は、2,206個のアミノ酸をコードしており、その推定分子量は、251,451Daであった。そのアミノ酸配列は、脊椎動物や無脊椎動物の昆虫で報告されている電圧依存性カルシウム・チャンネル・タンパク質の一般的構造を保持していた。SQCC1タンパク質と脊椎動物の電圧依存性カルシウム・チャンネル・タンパク質のアミノ酸配列の相同性を比較したところ、SQCC1タンパク質は、ジヒドロピリジン非感受性電圧依存性カルシウム・チャンネル・タンパク質に高い相同性を示した。

次に、SQCC1遺伝子の発現をノーザン・ブロット法により種々の組織を用いて解析したところ、この遺伝子は視葉・主葉・星状神経節などの神経にのみ発現しており、筋肉、心臓、胃には発現は認められなかった。このことからSQCC1遺伝子は、ヤリイカ神経系に特異的に発現しているジヒドロピリジン非感受性電圧依存性カルシウム・チャンネル・タンパク質をコードしていると考えられた。

さらに、SQCC1タンパク質に対する部位特異的抗ペプチド抗体を作製し、SQCC1タンパク質の免疫組織化学的解析を行なったところ、ヤリイカ神経系のシナプス層にドット状の免疫陽性反応が認められ、その染色像の形

態からシナプス前部に SQCC1タンパク質が存在することが示唆された。

以上の結果から、単離したSQCC1 遺伝子はヤリイカの神経系特異的電圧依存性カルシウム・チャンネル・タンパク質をコードしており、その組成分布からヤリイカの中樞神経系における神経情報の伝達に関与していることが推察された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は無脊椎動物のヤリイカの神経系の電圧依存性カルシウム・チャンネル遺伝子をクローニングし、チャンネル・タンパク質の一次構造を明らかにした。さらにこのタンパク質の抗体を作製し、その組織分布を調べた結果、このタンパク質は中枢神経系のシナプス部位に局在することを明らかにしている。本研究は分子生物学的知見の少ない無脊椎動物の電圧依存性カルシウム・チャンネル・タンパク等の機能解析を進める上で、さらに神経回路網の働きを研究する上でも非常に有用な私見である。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。