

P29 佐藤 徹^{1,2}、斉 悦¹、石浦章²、井原康夫¹ (1 東大・院・医・神経病理、2 東大・院・総合・生命)

γ セクレターゼの基質特異性の解析

老人斑として蓄積してくるアミロイド β 蛋白質(A β)は、アミロイド β 蛋白前駆体(APP)が β および γ セクレターゼによるプロセッシングを受け産生される。発症に関わる種は42残基から成るA β 42であることから、A β のC末端を決める γ セクレターゼの特異性を調べるため、無細胞系を確立して解析を行った。野生型APPと野生型プレセニリン2をダブルトランスフェクションしたCHO細胞から膜画分を調製し、生成A β を定量して γ セクレターゼ活性を測定した。無細胞系の γ セクレターゼ活性は温度依存的に上昇し、産生するA β 40とA β 42の量比は培養細胞の場合とほぼ同様であった。次に、DFK-167などの阻害剤を加えIC50を調べたところA β 42の方が10倍近く高かった。以上からA β 40とA β 42を産生する活性部位は違う可能性が考えられる。

P30 廣谷直子^{1,2}、森島真帆¹、堂前 直³、瀧尾擴士³、井原康夫^{1,2} (1 東大・院・医・神経病理、2 CREST、3 理研・生体分子解析室)

AD脳に蓄積するA β dimerの構造解析

アミロイド β タンパク質(A β)はAlzheimer病(AD)の病理学的特徴である老人斑の主要構成成分である。これまでの研究から、抗A β 抗体を用いたAD脳のウェスタンブロット解析でA β dimerと考えられる強染するバンドが認められ、A β dimerの存在がA β 蓄積に重要な働きをしているのではないかと考えられた。そこで、AD脳に蓄積するA β dimerの構造解析を試みた。A β dimerは凍結AD脳の2% SDS不溶性画分より70%ギ酸で抽出後、ゲルろ過、逆相クロマトグラフィーにより精製した。A β dimerの臭化シアン切断によりA β 1-35 dimerが得られたこと、リシルエンドペプチターゼ及び臭化シアン切断でA β 1-16断片の回収率が非常に悪かったこと、A β 17-28断片のアミノ酸配列が確認できたことから、1-16部分がdimer形成に関与しているのではないかと考えられる。

P31 佐藤泰史¹、平田たつみ¹、藤澤 肇² (1 遺伝研・脳機能、2 名大院・理・生命理学)

神経突起伸長に関わるM6aタンパクの解析

発生時にマウスの嗅球の軸索は終脳側面を伸長し、嗅索と呼ばれる神経束を形成する。嗅索の形成機構を解析するためにモノクローナル抗体を作製し、嗅索の形成を阻害する抗体をスクリーニングする事に成功した。この抗体は、成長円錐の退縮はおこさず、軸索の伸長のみを停止させた。この抗原のクローニングを試み、抗原がlipophilinファミリーに属する膜タンパク質、M6aであることを明らかにした。ここでは、神経突起の伸長におけるM6aの役割について考察する。

P32 平田たつみ¹、藤澤 肇²、Jane Y. Wu³、Yi Rao³ (1 国立遺伝学研究所、2 名古屋大学大学院、3 Washington Univ. School of Medicine)

嗅球軸索の短距離ガイダンスは反発性因子Slitとは独立に機能する

発生時、嗅球の軸索は終脳の外側を伸長して、嗅索を形成する。この軸索のガイドには2種類の機構が示唆されていた。1つは、中隔部から分泌される拡散性反発因子Slitで、これが嗅球軸索を外側に方向づける可能性が考えられた。もう一つは、予定嗅索領域に存在するlot細胞が生み出す短距離性ガイドシグナルで、その分子的な本体は不明であった。本研究では、これらの2つのガイド機構の関係を調べた。具体的には、終脳器官培養下でSlitの異所的添加や機能阻害を行って、lot細胞による短距離性ガイドに対する影響を検討した。その結果、これら2つの機構は、それぞれ独立に、嗅球軸索をガイドしている事が示された。また本研究により、中隔部から分泌されるSlitが、嗅球軸索のガイドに必要な可能性が示唆された。