

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 柏木 有太郎

本研究は、哺乳類の中樞神経系において細胞骨格相互結合タンパク質 ACF7 が持つ生理機能を明らかにするため、海馬分散培養を用いて ACF7 の発現を制御して樹状突起の形成とシナプスの発達に及ぼす影響を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. ACF7 の Plakin ドメインの一部を組み換えタンパク質として精製し、これをウサギに免疫することで ACF7 タンパク質の特異的抗体を作成した。ACF7 特異的抗体を用いて Western blotting を行い、大脳、小脳、海馬のいずれの部位においても ACF7 タンパク質の発現が生後 7 日から 28 日まで継続していることを示した。また海馬分散培養でも、ACF7 が同様に培養後三週まで継続して発現していることを確認した。
2. 神経突起の形成時（培養後 4 日）の海馬分散培養において、ACF7 が微小管とアクチンの境界部に局在することを免疫染色法によって明らかにした。神経突起形成時の海馬分散培養にプラスミドベクター性の shRNA を導入して ACF7 の発現を抑制したところ、樹状突起が減少し、さらにこの表現形は shRNA 耐性を持つ ACF7 を発現させることで回復することを示した。
3. マウス脳を生化学的に分画して Western blotting することによって、ACF7 がシナプス後部画分に存在することを示した。さらに、成熟した海馬分散培養を免疫染色することで ACF7 がスパイン内部に局在することを明らかにした。全長の ACF7 に GFP を融合させたプローブを作成し、これを海馬分散に発現させることで、ACF7-GFP が頭部体積の大きなスパインに集積することを明らかにした。また樹状突起形成後の海馬分散培養にプラスミドベクター性の shRNA を導入し、ACF7 の発現抑制によって興奮性シナプスの発達が減少することを示した。

以上、本論文はマウス海馬神経細胞において ACF7 が樹状突起の伸長を促進し、また興奮性シナプス後部の発達を促進するタンパク質であることを見出した。本研究はシナプス後部における微小管-アクチン相互作用の機能的な意義を理解する上で重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。