

氏名(本籍地) 福山悦子(神奈川県)
 学位記および番号 歯学博士, 甲 第264号
 学位授与の日付 平成21年3月10日
 学位論文題名 「魚類化学受容器に特異的に発現するGタンパク質の局在」
 論文審査委員 (主査) 堀内 登教授
 (副査) 大野 敬教授
 丸井隆之教授

論文の内容および審査の要旨

この学位申請論文の一次審査会は、平成20年12月4日に開催された。申請論文の内容は以下のようなものである。

コイ (*Cyprinus carpio* L.) の味上皮組織からクローニングにより得られた数種のアミノ酸部分配列のうち、哺乳類のGタンパク質として知られ、化学受容に関連するG_{olf}および苦味受容に関連する α -gustducin(G_{1 α})と相同性の高いクローンを選び、それらの抗体を作製して、そのGタンパク質の上皮細胞における局在を調べ、ほ乳類のGタンパク質と比較検討することを目的とした。

既に得られているコイのGタンパク質クローンの、遺伝子情報処理ソフトウェア(GENETYX-MAC ver.14.0)によるホモロジー検索の結果から、G_{olf}と相同性の高いクローンB-10と、G_{1 α} と相同性の高いクローンB-11を選択し、それぞれのアミノ酸配列中のペプチド“PVSIDNPSNQPRAE”と“IDFGDAARADDARQLFVLAG”を抗原ペプチドとしてウサギ抗血清(anti-B10とanti-B-11)を作製し、味上皮組織(ヒゲ)において免疫組織化学的検索を行った。また、市販の齧歯類で作製された抗体、anti- α -gustducin(G_{agust}, I-20, Santa Cruz Bio. Inc.)を、魚類とほ乳類の化学受容に関連するG蛋白質の差を検定するために免疫組織化学実験に使用した。

得られた結果は、

1) コイの嗅上皮と味上皮の薄切片を作成して、anti-B-10を用いて抗原抗体反応を観察したところ、コイの嗅上皮細胞全体に非特異的に免疫陽性反応を認めた。また、コイのヒゲ上皮でも非特異的に免疫陽性反応を呈し、クローンB-10は非特異的に上皮細胞に存在するG_{olf}の一つであること

が推察された。しかし、一部の味細胞にも陽性反応が観察されたことから、味蕾中の細胞では特異的に発現しているGタンパク質である。このことは、抗原としたB-10のアミノ酸配列“PVSIDNPSNQPRAE”が化学受容に関連するGタンパク質の一部であることを示唆しており、今後の実験によって明らかにしてゆく必要がある。

2) anti-B11では、コイ味上皮の味蕾の中の一部の細胞だけに特異的に免疫陽性反応が見られた。しかし、嗅上皮の切片では免疫陽性反応は観察されなかった。また、ラットの味上皮(有郭乳頭)では、anti-B11に対して免疫陽性反応は全く観察されなかった。このことから、anti-B11の抗原ペプチドは齧歯類のGタンパク質とは異なっていることが判明した。

3) 市販の齧歯類で作製された抗体であるanti- α -gustducin(G_{agust}, I-20, Santa Cruz Bio. Inc.)を使用した免疫組織化学実験から、コイでは免疫陽性反応は観察されなかった。

これらのことから、魚類の味細胞にも哺乳類と類似した特異的に発現するGタンパク質が存在し、特定の味細胞によって苦味物質の受容が行われていることが示唆されたが、魚類とほ乳類のGタンパク質が全く異なった部分配列があることが確認された。

審査委員会では、まず申請者より研究内容の要旨を説明させ、次いで審査委員より申請者にたいして口頭試問を行った。口頭試問では、①学位申請論文に関わる基本的な知識、②申請論文の学問的な意義、③Gタンパク質とその役割は何か、などについて質問を行い、申請者はいずれの質問にたいしても適切に回答した。その他、嗅上皮の結果に対して少し説明を入れた方がよいとの指摘があり、論文に付け加えさせることとした。また、誤字・脱字のある箇所も指摘され訂正することとした。

審査の結果、本審査委員会は、申請論文の内容は新奇性を持ち、申請者の学識と人柄などを鑑みて、博士の学位を授与するのに十分に値するものと認めた。

掲載雑誌

奥羽大学歯学誌 第36巻, 2号 41~48