

DA02649

2000

(E.G.)

Machado-Joseph 病の原因遺伝子産物, ataxin-3 の
凝集体形成性と細胞死に対する
ケミカル・シャペロン及びプロテアソーム拮抗剤の
効果に関する研究
— 一過性発現系をモデルとした解析 —

2000

筑波大学大学院博士課程医学研究科

吉田秀明

寄	贈
吉田秀明氏	平成 年 月 日

01003465

目次

序章	1
1. 神経変性疾患・ポリグルタミン病・Machado-Joseph 病について.	2
2. Machado-Joseph 病の分子生物学.	4
引用文献	6
第 I 章 Ataxin-3 の凝集体形成性と細胞死に対するケミカル・シャペロンの効果に関する研究.	11
(1). 目的.	12
(2). 対象と方法.	13
2-1. 細胞培養.	13
2-2. 異常(Q77)全長(full-length)MJD 遺伝子, 及び異常(Q77)短縮型(truncated form)MJD 遺伝子を発現するプラスミドの作製.	13
2-3. 遺伝子導入.	14
2-4. 投与薬剤.	14

2-5. 免疫蛍光染色法と DNA 染色法による凝集体形成と細胞死の頻度測定.	15
2-6. ウェスタンブロット法による発現タンパクの検討.	15
(3). 結果.	16
3-1. インビトロ下における変異 ataxin-3 による凝集体形成及び細胞死 の細胞モデル	16
3-2. DMSO の短縮型 ataxin-3(Q77)による凝集体形成と細胞死 に対する効果	16
3-3. Glycerol 及び TMAO の短縮型 ataxin-3(Q77)による凝集体形成と 細胞死に対する効果	18
3-4. 抗酸化剤である GSH-MEE 及び NAC の短縮型 ataxin-3(Q77)による 凝集体形成と細胞死に対する効果	19
(4). 考察.	20
(5). 結論.	22
引用文献	23
図・表	26

第Ⅱ章 Ataxin-3 の凝集体形成性と細胞死に対するプロテアソーム拮抗剤 の効果に関する研究.	27
(1). 目的.	28
(2). 対象と方法.	29
2-1. 細胞培養.	29
2-2. 異常(Q77)全長(full-length)MJD 遺伝子, 及び異常(Q77)短縮型 (truncated form)MJD 遺伝子を発現するプラスミドの作製.	29
2-3. 遺伝子導入.	29
2-4. 投与薬剤.	30
2-5. 免疫蛍光染色法と DNA 染色法による凝集体形成と細胞死の頻度測定.	30
(3). 結果.	31
3-1. プロテアソーム拮抗剤である Lactacystin 及び MG-132 の短縮型 ataxin-3(Q77)による凝集体形成と細胞死に対する効果.	31
(4). 考察.	31
(5). 結論.	33

引用文献	34
図・表	37
終章	38
結語	39
謝辞	40
参考文献	41

Abbreviations

本論文では以下の略語を用いる。

BHK	baby hamster kidney	幼児ハムスター腎臓
CAG	cytosine,adenine,guanine	シトシン,アデニン,グアニン
cDNA	complementary DNA	相補的デオキシリボ核酸
Cy3	Cyanine-3.18	
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルフォキシド
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DRPLA	dentatorubral-pallidoluysian atrophy	歯状核赤核淡蒼球ルイ体 萎縮症
FBS	fetal bovine serum	胎児牛血清
GSH-MEE	glutathione monoethyl ester	グルタチオンモノエチルエステル
HD	Huntington's disease	ハンチントン病
HSP	heat shock protein (stress-response protein)	熱ショックタンパク (ストレス応答タンパク)
MG-132	Z-Leu-Leu-Leu-CHO	
MJD	Machado-Joseph disease	マシャドウー-ジョセフ病
NAC	N-acetyl-L-cysteine	NアセチルLシステイン
NIIs	Neuronal intranuclear inclusionbodies	神経核内封入体
SCA	spinocerebellar ataxia	脊髄小脳失調症
PrP	prion protein	プリオンタンパク
SBMA	spinal bulbar muscular atrophy	球脊髄性筋萎縮症
TMAO	trimethylamine N-oxide	トリメチラミンNオキシド