



それぞれ共沈したタンパク質に対して HA および myc タグに対する抗体で免疫プロットを行ったところ、BTCL1 は同種間および異種間相互作用を示し、BTCL2 は少なくとも異種間相互作用を示した。

#### BTCL とセマフォリンレセプター間の相互作用

BTCL1/2 の CUB ドメインがセマフォリンレセプターである Np1 の CUB ドメインと相同性を示すことから、BTCL1/2 と Np1 との相互作用を解析した。さらに、Np1 と複合体を形成する Plexin-A (A1-A4) についても解析した。Np1・myc あるいは Plexin-A・myc と BTCL1・HA あるいは BTCL2・HA をそれぞれ COS 細胞に共発現させ、それぞれのタグに対する抗体を用いて免疫沈降を行った。それらの結果から、BTCL1/2 は Np1 および Plexin-A と相互作用することが明らかとなり、セマフォリンレセプターを形成する可能性が示唆された。

#### Np1 および Plexin-A1 に対する BTCL1 の相互作用部位の決定

BTCL1 の各種ドメイン変異体と Np1 あるいは Plexin-A1 の相互作用について詳細に検討した。BTCL1 ドメイン変異体をそれぞれ Np1 あるいは Plexin-A1 とともに COS 細胞に発現させ、Np1 あるいは Plexin-A1 に対する BTCL1 の相互作用部位を決定した。BTCL1 細胞質ドメイン欠失変異体は Np1 および Plexin-A と相互作用し、BTCL1 の 両 CUB ドメイン欠失変異体は、いずれとも相互作用しなかった。いずれかの CUB ドメイン欠失変異体は、両者と相互作用を示した。これらの結果より、Np1 および Plexin-A1 に対する BTCL1 の相互作用は CUB ドメインを介して行われ、少なくとも 1 つの CUB ドメインが十分な役割を担っていることが示唆された。

本研究により新規遺伝子 BTCL1/2 が発達期の神経組織、とくに神経回路形成において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。これは軸索ガイダンスの分子機構を解明する基礎となるものである。また、BTCL1/2 の生理機能の研究は中枢神経系の各種疾患や障害の理解および治療にも重要な情報を提供する可能性がある。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。