



# エナメル蛋白の分子多様性の意義に関する 分子組織化学的・分子生物学的研究

(課題番号 14571736)

平成14年度～平成15年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2)) 研究成果報告書

平成16年5月

研究代表者 <sup>ウチダ</sup> 内田 <sup>タカシ</sup> 隆

(広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授)



## はしがき

文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C)(2)の補助を受けて、平成14～15年度にかけて行われた「エナメル蛋白の分子多様性の意義に関する分子組織化学的・分子生物学的研究(課題番号:14571736)」は、研究代表者である内田が行っている、エナメル質形成機構に関する研究の一環である。

エナメル質形成過程で基質を構成するエナメル蛋白の一次構造は種特異性に乏しい反面、mRNAの択一的スプライシングによる多様性を持つことが知られている。遺伝子レベルでの解析の結果から、シープロテインであるブタのシースリでは2種類の分子型が生じると考えられており、ラットでは同一の遺伝子から生じた2種類の蛋白には、その発見の経緯もあってアメロブラスチンおよびアメリンという名称が付けられている。我々は平成12～13年度にかけて文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C)(2)の補助を受けてシースリンの2種類の分子型の発現について検討し、その意義を明らかにした。一方、アメロゲニンではmRNAの択一的スプライシングにより、蛋白レベルで少なくとも7種類の分子型が生じると考えられている。しかし、蛋白の存在が確認されていない分子型もあり、アメロゲニンについて、分子多様性の意義は殆ど研究されていない。

そこで本研究では、アメロゲニンに焦点を絞り、合成ペプチドを用いて分子型に特異的な抗体を作製し、免疫組織化学と分子生物学的手法を用いて、エナメル質形成機構におけるエナメル蛋白の分子多様性の意義を明らかにすることを目的とした。

本研究では、特定の分子型と特異的に反応する抗体が要求されるため、使用可能な抗体を得るために時間がかかり、現在作成中の抗体もある。従って研究はまだ途中であるが、予定した研究期間が終了したため、ここに今まで得られた成果をまとめて、一区切りとする。

### キーワード

エナメル質形成, エナメル蛋白, アメロゲニン, 免疫組織化学, 免疫化学



## 研究組織

平成14年度

研究代表者：内田 隆

(広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授)

平成15年度

研究代表者：内田 隆

研究分担者：山西恵美子

(広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助手)

なお、書類上は研究分担者ではないが、本研究を行ううえで、研究の一部を分担してもらい、あるいは多大な助言を得た研究者を、研究協力者としてここにあげて、感謝の意を表しておく。

研究協力者：刈茅恵美

(広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助手)

” : 林田浩一

(広島大学・歯学研究科・大学院生)

## 研究経費

交付決定額 (配分額)	金額単位：千円		
	直接経費	間接経費	合計
平成14年度	2,000	0	2,000
平成15年度	1,500	0	1,500
総計	3,500	0	3,500

# 研究発表

## ア. 学会誌等へ発表した論文

歯周組織再生とエナメル蛋白、深江 允、石川 烈、内田 隆、矢嶋俊彦編、永末書店、京都、2002年.

Kawano S, Morotomi T, Toyono T, Nakamura N, Uchida T, Ohishi M, Toyoshima K, Harada H. (2002) Establishment of dental epithelial cell line (HAT-7) and the cell differentiation dependent on Notch signaling pathway. *Connect Tissue Res* 2002;43(2-3):409-412.

Nakanishi M, Kuwamura M, Yamate J, Aoki M, Uchida T (2002) Calcifying epithelial odontogenic tumor in a dog. *J. Toxicol Pathol* 15:171-173.

Uchida T, Ishrat Jahan, Karukaya-Kakuo E, Murakami-Kubo C, Wakida K, Hayashida K, Hiyama S, Yamanishi E, Satoda T (2003) Characterization of Enamelysin (MMP-20) Expressed in the Porcine Odontoblast. *Biomed Res.* 24:205-216.

Yamasaki Y, Yoshida Y, Okazaki M, Shimazu A, Kubo T, Akagawa Y, Uchida T. (2003) Action of FGMgCO(3)Ap-collagen composite in promoting bone formation. *Biomaterials.* 24:4913-4920.

Hasegawa N, Kawaguchi H, Ogawa T, Uchida T, Kurihara H. (2003) Immunohistochemical characteristics of epithelial cell rests of Malassez during cementum repair. *J Periodontal Res.* 38:51-56.

## イ. 学会発表（予定も含む）

象牙芽細胞におけるエナメリシン（MMP-20）の発現  
内田隆、樋山伸二、刈茅恵美、里田隆博、林田浩一  
第11回硬組織生物学会年会、松戸、2002年9月

象牙芽細胞におけるエナメリシンの発現と局在  
刈茅 恵美、林田 浩一、樋山 伸二、里田 隆博、内田 隆  
第44回歯科基礎医学会学術大会、東京、2002年10月

Notch signaling によるエナメル上皮の分化制御

川野 真太郎、豊野 孝、瀬田 裕司、豊島 邦昭、内田 隆、大石  
正道、原田 英光

第 44 回 歯科基礎医学会学術大会、東京、2002 年 10 月

Expression and functional significance of enamel proteins in amelogenesis.

Takashi Uchida, Emi Karukaya, Shinji Hiyama, Takahiro Satoda, Kouichi  
Hayashida

International Symposium on Tooth Structure and Evolution, Karuizawa, 2002,9

エナメル質の形成機構、免疫組織化学と免疫化学によるエナメル蛋白の  
局在と機能の解析

内田 隆

日本大学・平成 10 年度選定学術フロンティア推進事業報告会「加齢に  
伴う口腔機能の発達と維持機構の解明」、松戸、2003 年 2 月

象牙芽細胞におけるエナメリシンの発現と局在

内田 隆、刈茅 恵美、林田 浩一、樋山 伸二、里田 隆博

第 108 回 日本解剖学会全国学術集会、東京、2002 年 10 月

アメロゲニンの分子多様性の意義に関する免疫組織化学的・免疫化学的  
研究

内田 隆、山西恵美子、林田浩一、樋山伸二、里田隆博

第 45 回 歯科基礎医学会学術大会、盛岡、2003 年 9 月

アメロゲニンの分子多様性に関する免疫組織化学的・免疫化学的研究

内田 隆、山西恵美子、林田浩一、樋山伸二、里田隆博

平成 13 年度－平成 15 年度学術フロンティア推進事業合同研究集会、湯  
沢、2004 年 3 月

Amelogenesis and protein dynamics.

Takashi Uchida, Chikage Murakami-Kubo, Kazuyoshi Wakida, Emiko  
Yamanishi, Ko-ichi Hayashida, Shinji Hiyama and Takahiro Satoda

8th Asian-Pacific Conference on Electron Microscopy, Kanazawa, 2004, 6 (発  
表予定)

Expression and functional significance of enamel proteins in amelogenesis.

T. Uchida, E. Yamanishi, K. Hayashida, S. Hiyama and T. Satoda

16th International Congress of the International Federation of Associations of  
Anatomists, Kyoto, 2004, 8 (発表予定)

# 研究成果

## 1. 緒言

アメロゲニンは、Eastoe (1979) によって幼若エナメル質に含まれる独特の蛋白として命名された。その後、幼若エナメル質から抽出精製したタンパクの解析、あるいはエナメル器由来の cDNA ライブラリーの解析から、ブタ (Yamakoshi et al., 1994)、マウス (Snead et al., 1985)、ウシ (Shimokawa et al., 1987) などについて、次々と一次構造が調べられた。その結果、動物種によって多少の違いはあるものの、アメロゲニン遺伝子は性染色体上に位置し、7つのエクソンを持つこと、これらのエクソンの択一的スプライシングにより様々なアメロゲニンの分子型が存在すること等が明らかにされてきた。図1は Hu ら (1996) によって明らかにされたブタのアメロゲニンの mRNA のスプライシングの様相を図に表したものである。

アメロゲニンの分子型がこのように多様であることは、シースポロテインの分子型が2種類しかなく、またエナメルリンでは択一的スプライシングによる分子多様性は認められていないことと対照的である。アメロゲニンは基質形成期幼若エナメル質中に最も多く含まれるエナメルタンパクであり、また歯の発生過程で最も早期に発現するエナメルタンパクであるため、エナメル質形成に重要な役割を果たしていると考えられている。実際、アメロゲニン遺伝子をノックアウトしたマウスでは、エナメル質がほとんど形成されず、またその内部構造にも欠陥があることが報告されている (Gibson et al., 2001)。しかし、その分子多様性の意義についてはほとんど明らかにされていない。また、エナメル器由来の cDNA ライブラリーの解析では、エクソンには含まれているが最終的には翻訳されないアミノ酸配列 (Hu et al., 2002)、あるいは mRNA は存在するが、タンパクとしては未だ存在が確認されていない分子型もある。

そこで本研究では、特定の分子型を特異的に認識するアメロゲニン抗体を作成し、その抗体を用いた免疫組織化学と免疫化学によって、ブタ歯胚におけるアメロゲニンの分子型に依存した合成、分解、局在について検討し、エナメル質形成におけるアメロゲニンの分子多様性の意義を解明することを試みた。

## 2. 材料と方法

### 1) 免疫組織化学と免疫化学

実験材料として、アメロゲニンの mRNA の択一的スプライシングの様相が明らかにされており、すでに我々が数種類のアメロゲニン特異抗体を持っているブタを用いた。

免疫化学のためには、体重約 2～4 Kg のブタ上下顎の乳白歯歯胚から基質形成期幼若エナメル質を集め、0.5M 酢酸で蛋白を抽出し、エナメルタンパク画分とした。エナメルタンパクは SDS-ポリアクリルアミドゲルで電気泳動した後、ニトロセルロース膜に転写して、抗アメロゲニン抗体を用いて ABC 法により免疫染色を行った。

免疫組織化学のためには、体重約 2～4 Kg のブタを還流固定し、上下顎の乳白歯歯胚を取り出して EDTA あるいは蟻酸で脱灰した後、パラフィンあるいは低温下で GMA に包埋した。パラフィン切片は ABC 法で、GMA 切片はイムノゴールド-シルバー法で免疫染色した。

### 1) 特異抗体の作成 (図 2、表 1)

スプライシングの結果生じるアメロゲニンの分子を特異的に認識するため、各エクソンの結合部のアミノ酸配列を含む合成ペプチドを作製し、これを卵アルブミンと結合させてウサギに免疫した。得られた抗血清から、抗原としたペプチドをリガンドとしたアフィニティーカラムで特異抗体を精製し、免疫染色に用いた。合成したペプチドの配列及びその由来は次の通りである。また、すべての分子型に反応する抗体を作製するため、エクソン 6 の 3' 側の配列を含む合成ペプチドを作製した。合成ペプチドのアミノ酸配列が、シーспロテインやエナメルリン等の他のエナメルタンパク、あるいは他の分子型のアメロゲニンと類似性が低いことは、データベースで確認した。これらの配列のアメロゲニン分子中の位置と得られた抗体のコード名、作製した抗体と反応すると予想されるアメロゲニンの分子型について、それぞれ図 2 および表 1 にまとめた。

#### 配列 1 MPVLTPLK WYQNC

このペプチドはエクソン 2 の 3' 末端とエクソン 5 の 5' 側の配列をつなぎ合わせた配列を有し、このペプチドを抗原として得られた抗体 2-5 は、エクソン 3 及びエクソン 4 を含まない、157 アミノ酸残基よりなるアメロゲニンと、40 アミノ酸残基よりなるアメロゲニンの、2 種類のアメロゲニンと反応すると予想される。これらのアメロゲニンの分子量は、約 18kDa 及び約 5kDa である。

#### 配列 2 QNMIRHP SLLPDL C

このペプチドはエクソン 5 の 3' 側とエクソン 6 の 3' 側 (エクソン

6 b) の配列をつなぎ合わせたアミノ酸配列を持ち、このペプチドを抗原とした抗体 5 - 6 b は、エクソン 6 の 5' 側がインターナルスプライシングによって削除された、56 アミノ酸残基、及び 40 アミノ酸残基からなるアメロゲニンと反応すると予想され、その分子量は約 6.5kDa 及び約 5 kDa である。

#### 配列 3 E K S G R W G A R L T A C

このペプチドは、エクソン 4 の 5' 末端側の配列を含み、得られた抗体 4 a は 190 アミノ酸残基からなる 27kDa アメロゲニンと反応すると予想される。

#### 配列 4 D L Y L E A I R I D R T A F C

このペプチドは、エクソン 4 の 3' 末端側の配列を含む。Huら(2002)によれば、エクソン 4 の 3' 側はスプライシングによって除去されるため、このペプチドを抗原とした抗体 4 b と反応するアメロゲニンは存在しないと予想される。

#### 配列 5 A L Q P H H H I P M V P A C

このペプチドはエクソン 6 の 5' 側 (エクソン 6 a) のアミノ酸配列を持ち、このペプチドを抗原とした抗体 6 a は、157 アミノ酸残基、173 アミノ酸残基、及び 190 アミノ酸残基からなるアメロゲニンと反応すると予想され、その分子量は約 18kDa、25kDa 及び約 27kDa である。

#### 配列 6 C L E A W P A T D K K R D D V D

このペプチドはエクソン 6 の 3' 側 (エクソン 6 b) のアミノ酸配列を持つ。この部分がスプライシングによって削除されたアメロゲニンは存在しないと考えられているので、このペプチドを抗原とした抗体 6 b は、すべての分子型のアメロゲニンと反応すると予想される。

### 3. 結果

#### 1) 免疫化学 (図 3)

ブタ基質形成期幼若エナメル質から抽出したタンパクのウエスタンブロットでは、抗体 4 b を除き、すべての抗体がエナメルタンパクと反応した。抗体 4 b は全く反応しなかった。

抗体 2 - 5 は、分子量 7kDa から 18kDa までの多数のタンパクバンドと反応した。18kDa これらのうち、18kDa のバンドは、抗体 6 a 及び抗体 6 b でも染色された。

抗体 5 - 6 b は、分子量 6.5kDa のタンパクバンドと反応し、このバンドは抗体 6 a では染色されず、抗体 6 b で染色された。

抗体 4 a は 26kDa、23kDa、19.5kDa のタンパクバンドと弱い反応を示した。これらのバンドのうち、抗体 6 a あるいは抗体 6 b で染色されるものはなかった。

#### 2) 免疫組織化学

##### a. 基質形成期幼若エナメル質におけるアメロゲニンの局在 (図 4)

GMA に低温下で包埋したブタ乳臼歯歯胚の超薄切片を、イムノゴールド-シルバー法で免疫染色することにより、エナメルタンパクの幼若エナメル質内における分布を定量的に観察できる (Uchida et al., 1997, 1998)。本研究でも、まずこの方法により、基質形成期におけるアメロゲニンの局在について検討した。

抗体 2 - 5 では、幼若エナメル質はほぼ全層にわたり染色され、小柱鞘がやや強く染まった。抗体 5 - 6 b でも類似した染色パターンが得られたが、エナメル質表層では小柱鞘の染色が抗体 2 - 5 に比べて不明瞭であった。抗体 4 a では、幼若エナメル質は非常に弱くしか染色されなかった。抗体 4 b では、幼若エナメル質は全く染色されなかった。抗体 6 a では、エナメル質表層が非常に強く染色され、深層に行くに従って染色は弱くなり、小柱鞘が強く染色される傾向があった。抗体 6 b では、エナメル質表層が強く染色され、それより内部はほとんど染まらなかった。

##### b. 移行期から成熟期初期におけるアメロゲニンの局在 (図 5)

抗体 2 - 5 では、移行期及び成熟期のごく初期における染色パターンは基質形成期とほぼ同様で、その後染色は急速に弱くなった。抗体 5 - 6 b では、抗体 2 - 5 と類似した染色パターンであったが、成熟期においては抗体 2 - 5 よりも早期に染色が消失した。抗体 4 a でも抗体 2 - 6 b と同一の時期に染色が消失した。抗体 6 a では成熟期初期に染色がやや強くなり、その後急速に弱くなって消失した。抗体 6 b では、移行期になると表層の染色される部分の幅が次第に狭くなり、成熟期ではほとんど染色されなくなった。

c. 分化期エナメル芽細胞におけるアメロゲニンの発現 (図 6, 7)

分化期エナメル芽細胞におけるアメロゲニンの発現は、パラフィン切片で観察した。抗体 2-5 は染色が弱く、エナメル芽細胞内にほとんど染色は認められなかった。抗体 5-6 b では、エナメル質が形成される直前になって、エナメル芽細胞のゴルジ装置に染色が認められた。抗体 6 b では、エナメル芽細胞の分化途中で、ゴルジ装置がまだ移動せずに細胞の遠位部にある段階から染色が認められた。

d. 基質形成期エナメル芽細胞におけるアメロゲニンの発現 (図 8)

抗体 5-6 b と抗体 6 b では、基質形成期エナメル芽細胞ゴルジ装置が強く染色されたが、抗体 6 b の方がやや強かった。基質形成期の初期と中期を比べると、抗体 6 b ではゴルジ装置の染色にほとんど差はなかったが、抗体 5-6 b では、基質形成期の初期の方が染色が明瞭であった。

#### 4. 考察及び結論

この研究ではアメロゲニンの分子型を特異的に認識するための抗体を4種類作製したが、そのうちエクソン2の3'末端とエクソン5の5'側にまたがるアミノ酸配列に対する抗体と、エクソン5の3'側とエクソン6の3'側（エクソン6b）にまたがるアミノ酸配列に対する抗体は、幼若エナメル質と明瞭に反応した。ウエスタンブロットでは、反応したタンパクの分子量は予想された通りで、エクソン6bのアミノ酸配列を認識する抗体によっても、これらの抗体が目的のタンパクと反応していることが示され。また、免疫組織化学でも幼若エナメル質が明瞭に染色され、これら2種類の抗体については、設計通りの抗体がえられたことが確認された。

基質形成期の幼若エナメル質では、エクソン2の3'末端とエクソン5の5'側にまたがるアミノ酸配列に対する抗体と、エクソン5の3'側とエクソン6bにまたがるアミノ酸配列に対する抗体の染色パターンは似ており、エクソン6bのアミノ酸配列に対する抗体に比べ、エナメル質表層から小柱鞘を染色する傾向が強かった。また、エクソン2の3'末端とエクソン5の5'側にまたがるアミノ酸配列に対する抗体では、他の抗体に比べウエスタンブロットでより多くのタンパクバンドが染色されると共に、免疫組織化学では成熟期でより分解されにくいことが示された。これらのことから、アメロゲニンの分子型に依存した、幼若エナメル質内での分布と分解様式があることが明らかとなった。

分化期では、エクソン5の3'側とエクソン6bにまたがるアミノ酸配列を含むタンパクの発現時期は、エクソン6bのアミノ酸配列を含むタンパクに比べ、やや遅れていた。また、基質形成期では、初期に比べ、中期のゴルジ装置の染色が明らかに弱かった。これらのことから、アメロゲニンの分子型に依存して、エナメル芽細胞の分化段階に応じた発現パターンがあることも明らかとなった。

一方、エクソン4bのアミノ酸配列に対する抗体は、全く反応が得られなかった。この結果はHuら（2002）の結果と一致し、エクソン4bは蛋白にまで翻訳されないことを示している。ペプチド抗体は必ずしもそのアミノ酸配列を含む蛋白と反応するとは限らなが、リコンビナントタンパク等によって、今回作製した抗体がエクソン4bを含むアメロゲニンと反応することが証明できれば、ブタ歯胚においてはエクソン4bは蛋白にまで翻訳されないことは確実といえる。

エクソン4aのアミノ酸配列を認識する抗体は、ウエスタンブロットと免疫組織化学で幼若エナメル質とわずかに反応した。しかし、反応するタンパクうち、最も高い分子量は予想とは若干異なっていた。また、エクソン6の3'側（エクソン6b）のアミノ酸配列を認識する抗体で染色されるタンパクバンドとは一致しなかった。ペプチド抗体は必ずしもそのアミノ酸配列を含む蛋白と反応するとは限らないため、この抗体

がエクソン4 aを含むアメロゲニンと反応しているか否かについては、さらに検討が必要である。現在エクソン4 aに関連した次のような配列を持つ合成ペプチドで抗体を作成中のため、これらの抗体を用いた研究により、エクソン4 aを含むアメロゲニンについて、その詳細が明らかになると考えられる。

NFSYEKSGRWGARC  
RWGARLTAFVSSC  
YINFSEKSGC

## 文献

- Eastoe JE. (1979) Enamel protein chemistry—past, present and future. *J Dent Res.* 58(Spec Issue B):753-764.
- Yamakoshi Y, Tanabe T, Fukae M, Shimizu M. (1994) Porcine amelogenins. *Calcif Tissue Int.* 54:69-75.
- Snead ML, Lau EC, Zeichner-David M, Fincham AG, Woo SL, Slavkin HC. (1985) DNA sequence for cloned cDNA for murine amelogenin reveal the amino acid sequence for enamel-specific protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 129:812-818.
- Shimokawa H, Sobel ME, Sasaki M, Termine JD, Young MF. (1987) Heterogeneity of amelogenin mRNA in the bovine tooth germ. *J Biol Chem.* 262:4042-4047.
- Hu CC, Bartlett JD, Zhang CH, Qian Q, Ryu OH, Simmer JP. (1996) Cloning, cDNA sequence, and alternative splicing of porcine amelogenin mRNAs. *J Dent Res.* 75:1735-1741.
- Gibson CW, Yuan ZA, Hall B, Longenecker G, Chen E, Thyagarajan T, Sreenath T, Wright JT, Decker S, Piddington R, Harrison G, Kulkarni AB. (2001) Amelogenin-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J Biol Chem.* 276:31871-31875.
- Hu CC, Ryu OH, Yamakoshi Y, Zhang CH, Cao X, Qian Q, Simmer JP. (2002) Pig amelogenin gene expresses a unique exon 4. *Connect Tissue Res.* 43:435-440.
- Uchida T, Murakami C, Dohi N, Wakida K, Satoda T, Takahashi O (1997) Synthesis, secretion, degradation, and fate of ameloblastin during the matrix formation stage of the rat incisor as shown by immunocytochemistry and immunochemistry using region-specific antibodies. *J Histochem Cytochem* 45: 1329-1340.
- Uchida T, Murakami C, Wakida K, Dohi N, Iwai Y, Simmer JP, Fukae M, Satoda T, Takahashi O (1998) Sheath proteins: synthesis, secretion, degradation and fate in forming enamel. *Eur J Oral Sci* 106 (suppl 1):

308-314.

## Antibodies

Code	Amino acid sequence	Amelogenins
Antibody 2-5	MPVLTPLKQYQN	157 40
Antibody 5-6b	QNMIRHPSLLPDL	56 40
Antibody 4a	EKSGRWGARLTA	190
Antibody 4b	DYLEAIRIDRTAF	Unknown
Antibody 6a	ALQPHHHIPMVPA	190 173 157
Antibody 6b	LEAWPATDKTKREED	190 173 157 56 41 40

表1 合成ペプチドのアミノ酸配列を示す。左側は抗体のコード、右側の数字は抗体と反応すると予想されるアメロゲニン分子に含まれるアミノ酸残基数。

## Porcine Amelogenin Alternative Splicing

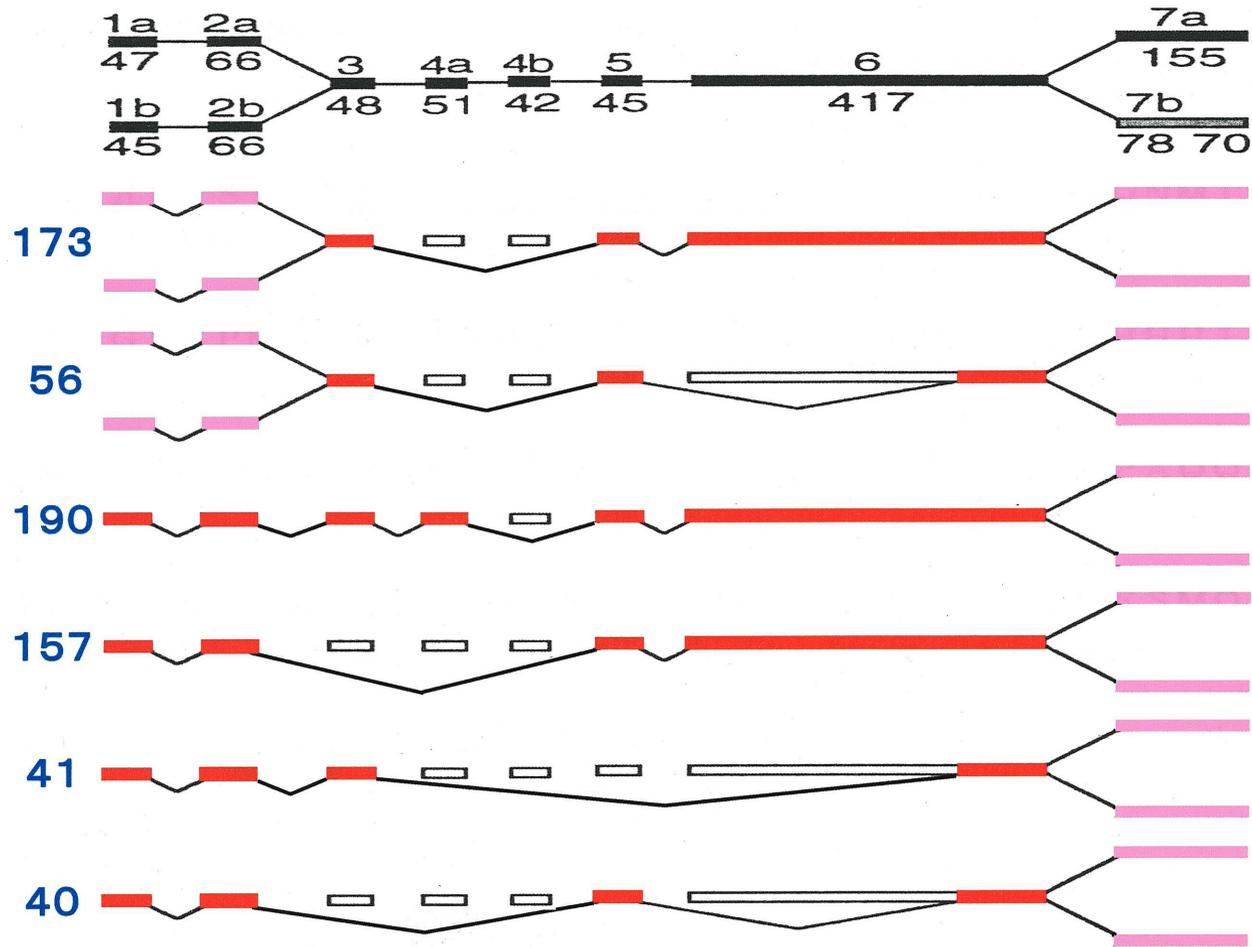


図1 ブタアメロゲニンのmRNAの構造を示す模式図。太いバーはエクソンを、その間の線はイントロンを示す。橙色のエクソンはmRNAに含まれる部分を、ピンク色のエクソンは上下のどちらかが転写されることを、白色のエクソンは択一的スプライシングによって除去される部分を示している。左側の数字は翻訳されたタンパクのアミノ酸残基数。(Hu et al., 1996 を改変)



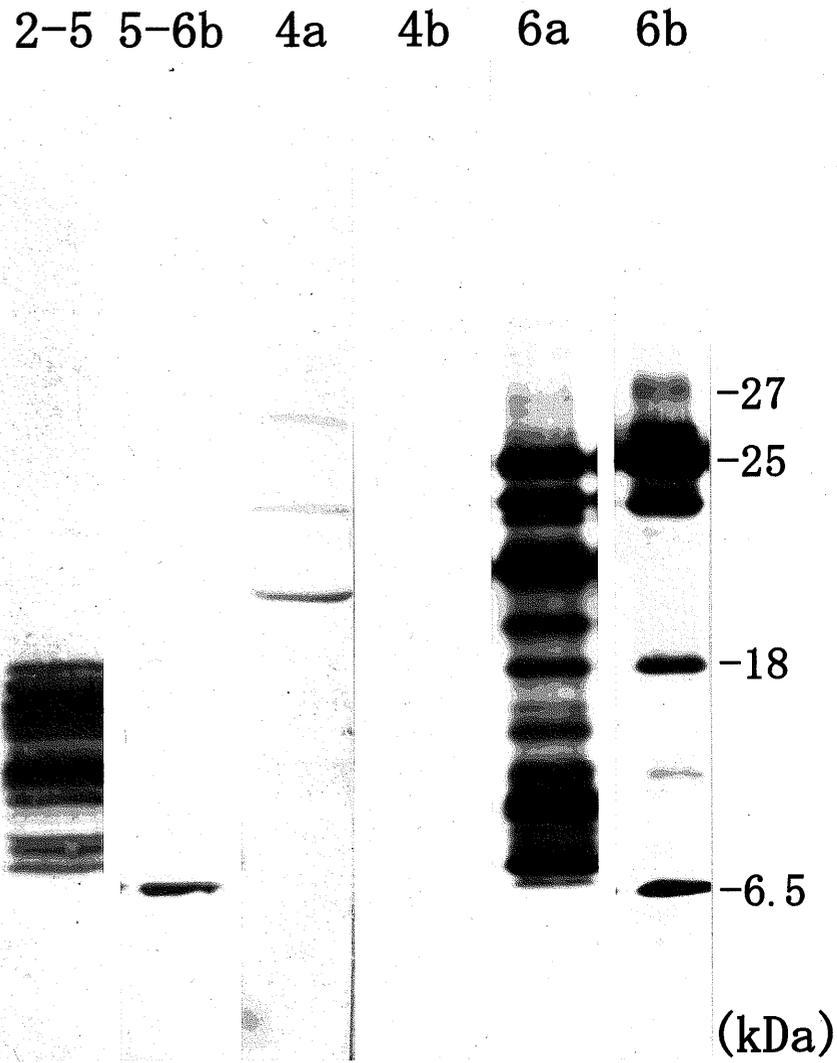


図3 ウェスタンブロットの結果。レーンの上の文字は抗体のコードを、右側の数字は分子量を示す。

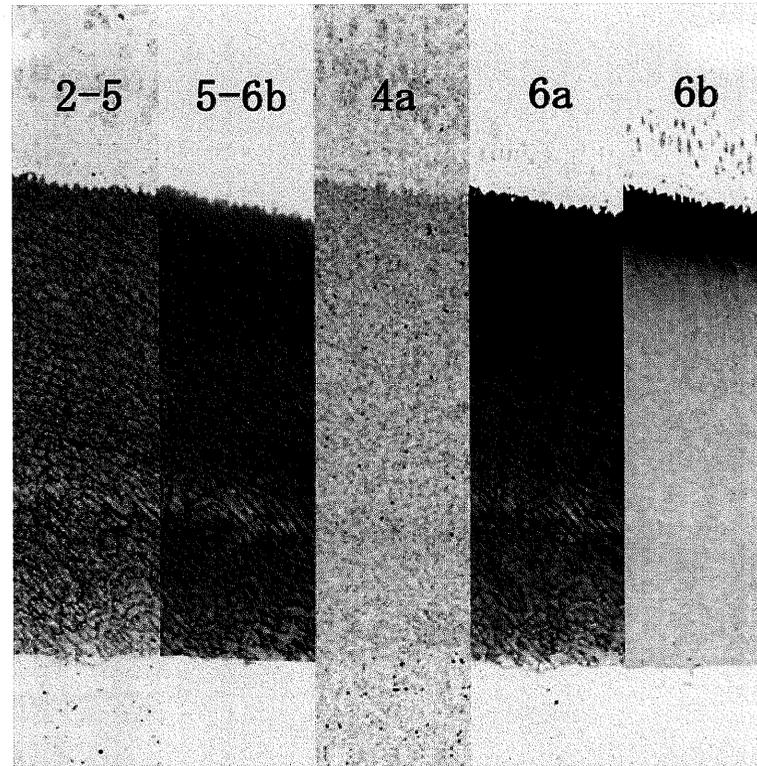


図4 基質形成期幼若エナメル質におけるアメロゲニンの局在を示す。図中の文字は抗体のコード。

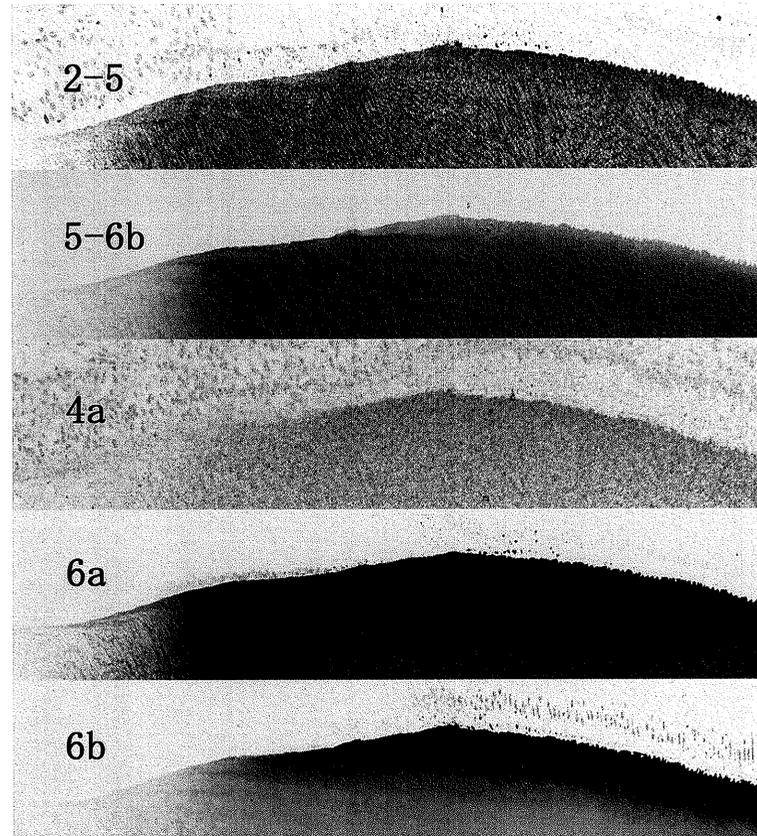


図5 移行期から成熟期初期における幼若エナメル質におけるアメロゲニンの局在を示す。図の右側が基質形成期で、図の中央が基質形成期と移行期の境界。図中の文字は抗体のコード。

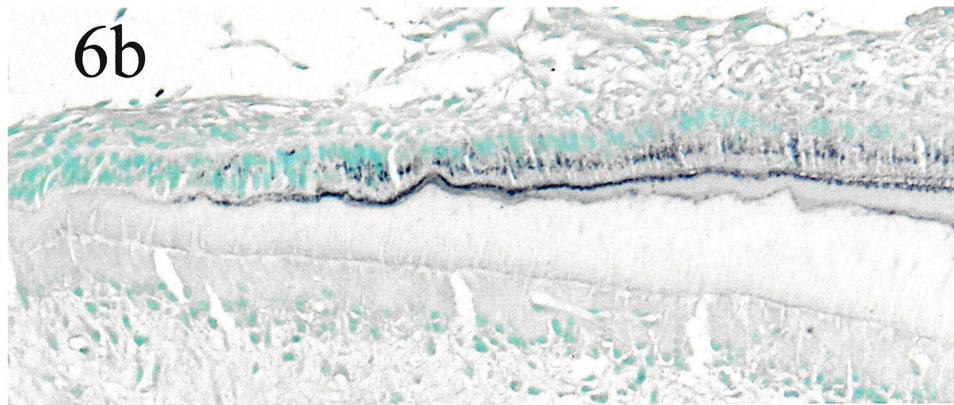
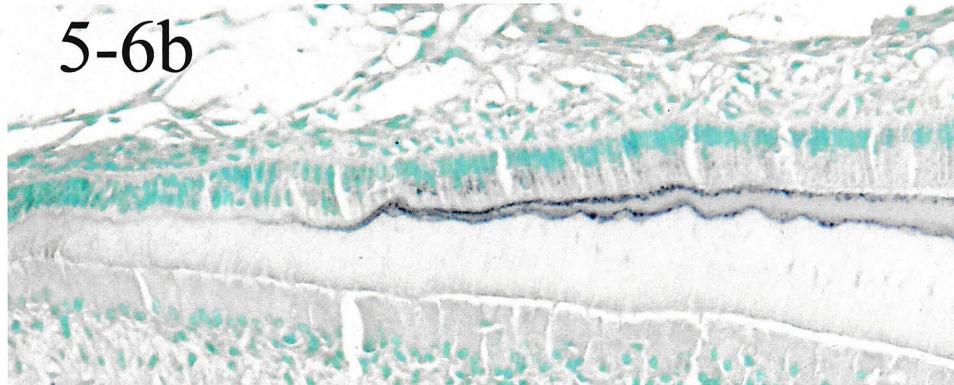
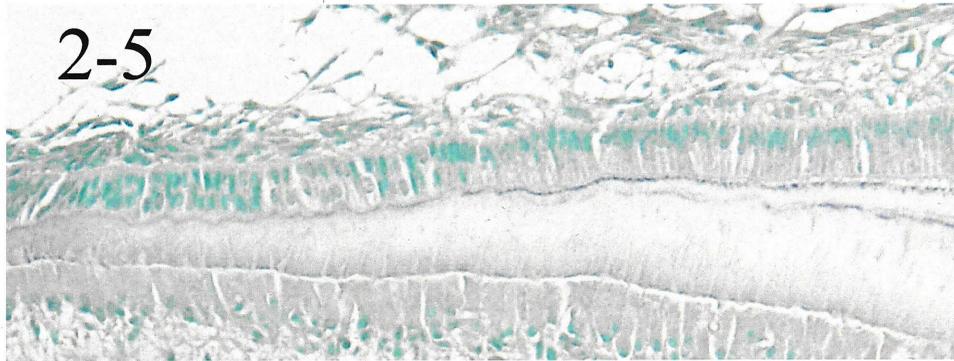


図6 分化期から基質形成期初期における、エナメル芽細胞と細胞外基質中のアメロゲニンの局在を示す。図中の文字は抗体のコード。

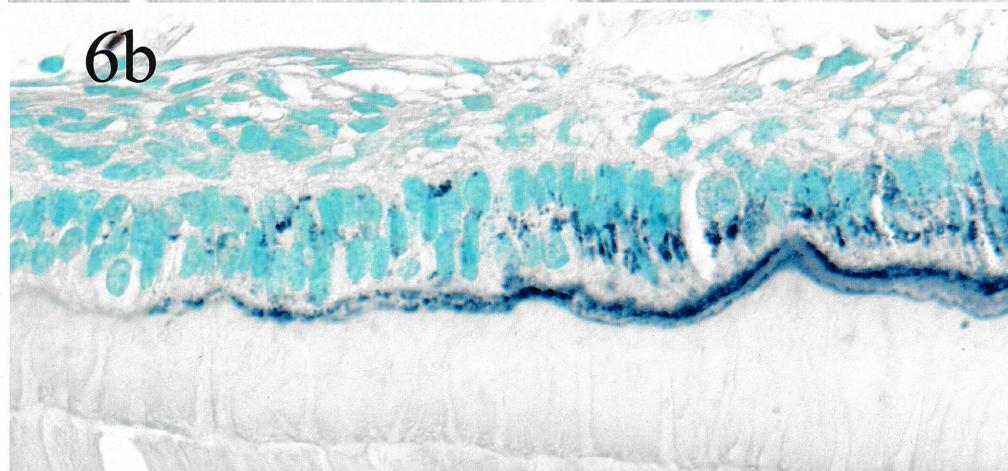
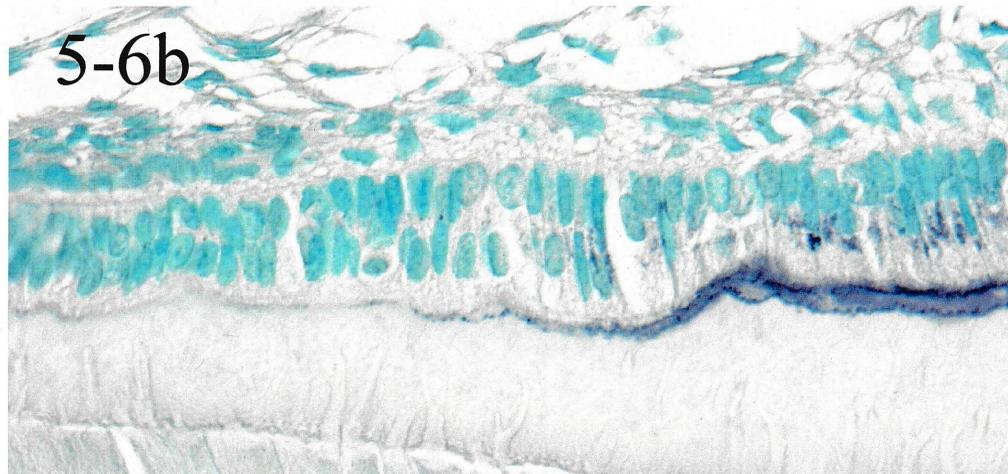


図7 分化期から基質形成期初期における、エナメル芽細胞と細胞外基質中のアメロゲニンの局在を示す。図6の一部拡大。図中の文字は抗体のコード。

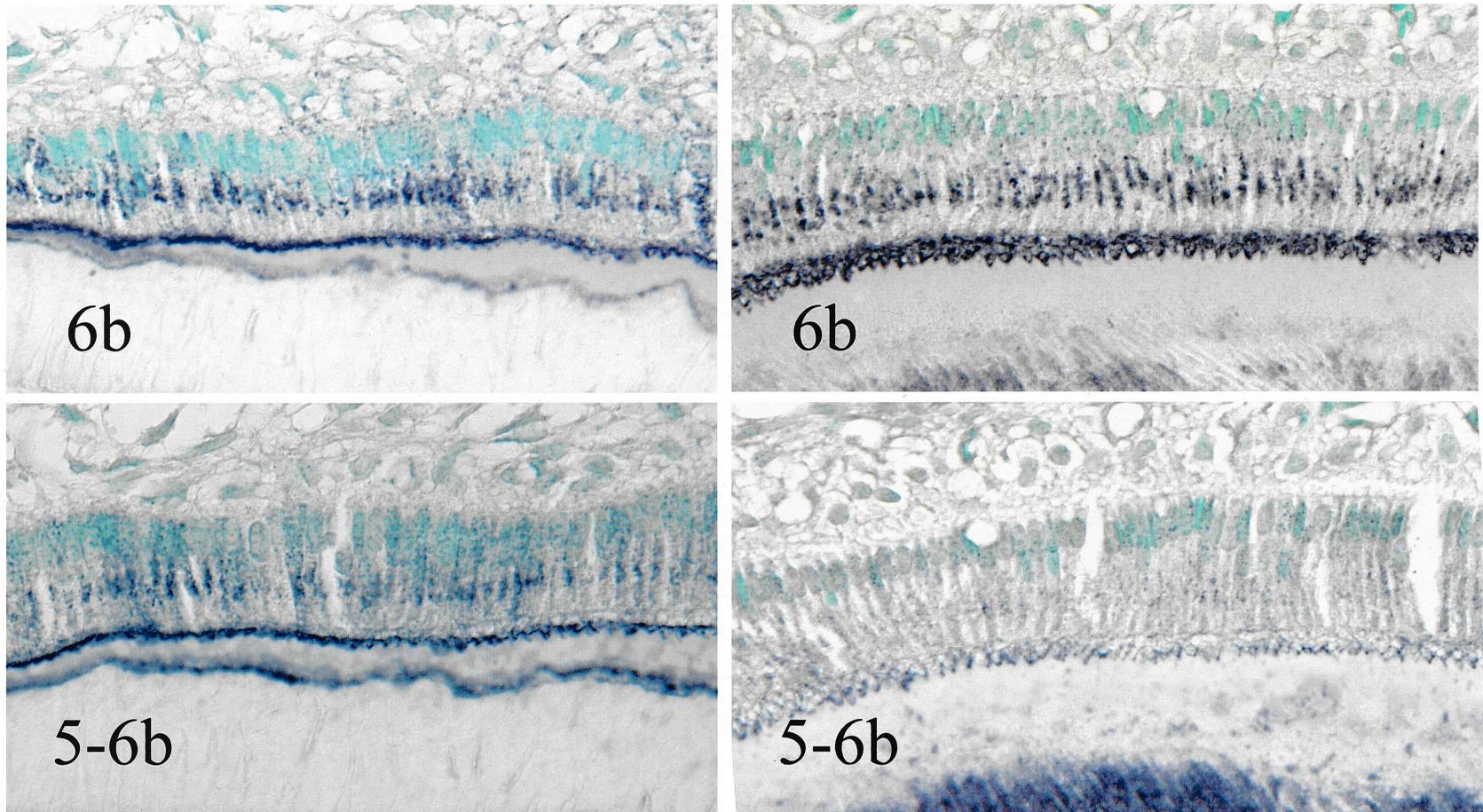


図8 基質形成期初期（左側）と中期（右側）のエナメル芽細胞内における免疫活性の比較。図中の文字は抗体のコード。