

氏名	きたの 北野 潤
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2478号
学位授与の日付	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	Tamalin, a PDZ Domain-containing Protein, Links a Protein Complex Formation of Group 1 Metabotropic Glutamate Receptors and the Guanine Nucleotide Exchange Factor Cytohesins (PDZドメインをもつタンパク質 Tamalin は、グループ1代謝型グルタミン酸受容体とグアニンヌクレオチド交換因子 Cytohesin の複合体を形成させる)
論文調査委員	(主査) 教授金子武嗣 教授大森治紀 教授中西重忠

論文内容の要旨

グループ1代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) は、生体内に於いて、神経回路網の形成、運動機能の制御、記憶、薬物依存などにおいて極めて重要な分子であることが明らかにされてきた。グループ1mGluRを制御する因子を明らかにすることは、脳機能の分子メカニズムを解明する上で極めて重要であると考えられる。また、いくつかの神経伝達物質の受容体は、そのカルボキシル末端にPDZドメインをもつ分子が結合し、調節を受けていることが明らかにされつつある。以上の観点に基づき、グループ1mGluR (mGluR1/5) に結合する分子を単離し、その機能を解析した。

mGluRの細胞内領域を用いてラット脳のcDNAライブラリーを酵母2ハイブリッド法にてスクリーニングし、PDZドメインをもった分子 (tamalin と命名) を単離した。以下の通り、種々の方法を用いて(1)tamalinのmGluRとの結合、(2)基本的な性質、および、(3)機能を解析した。

(1)酵母2ハイブリッド法により、tamalinは、グループ1とグループ2のmGluRに結合した。*In vitro* GST pull-down アッセイの結果、tamalinはPDZドメインを介して、mGluR1のカルボキシル末端に直接結合することが明らかとなった。mGluR1/5とtamalinは、両遺伝子を強制的に発現させたHEK293細胞からのみならず、脳の膜分画からも共免疫沈降した。

(2)TamalinのcDNAは、394アミノ酸から成るタンパク質をコードしており、PDZドメインの他にも多くの蛋白相互作用に関わるドメイン・モチーフをもつことが明らかとなった。ノザンプロッティングの結果、mRNAは、脳を含む様々なマウス組織に発現していた。*In situ hybridization*の結果、マウス脳内では、特に終脳領域に強い発現がみられた。

(3)Tamalinは、mGluR1/5のみならず、低分子量G蛋白のヌクレオチド交換因子であるcytohesinとも結合し、mGluR1/tamalin/cytohesinで形成される三量体の存在は、これら3遺伝子を強制発現させたCOS-7細胞と脳の膜分画からの共免疫沈降法によって確認された。cytohesinが細胞内輸送に関わる分子であることが知られていることより、tamalinがmGluR1/5の輸送へ与える影響について解析した。Tamalinは、COS-7細胞においてmGluR1の細胞膜表面の発現量を増加させ、海馬の培養ニューロンにおいてはmGluR5の神経突起への輸送を増加させた。また、cytohesinとの結合領域を欠失させた変異型tamalinは、逆に、これらを減少させた。

このように、脳内においてmGluR1/5と結合する因子tamalinを単離し、tamalinが、mGluR1/5の輸送に重要であることを発見した。

論文審査の結果の要旨

グループ1代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) は、様々な脳機能において極めて重要な分子であり、本受容体を調節・制御する因子を明らかにすることは、脳機能の分子メカニズムを解明する上で極めて重要である。本研究では、yeast

two-hybrid 法を用いて、PDZ ドメインを介してグループ 1mGluR のカルボキシル末端に直接結合する tamalin と命名した新しい分子を単離した。グループ 1mGluR と tamalin の結合は、脳の膜分画からの共免疫沈降など種々の生化学的実験によって確認された。さらに、tamalin に結合する分子としてヌクレオチド交換因子である cytohesin を見出し、mGluRI/tamalin/cytohesin からなる三量体の存在を生化学的実験によって確認した。種々の機能解析の結果、tamalin は、上皮系培養細胞と海馬の培養神経細胞においてグループ 1mGluR の輸送を制御していること、また cytohesin との結合領域を欠失させた変異型 tamalin は、これらの機能を抑制することを明らかにした。以上、本研究では、グループ 1mGluR と結合する因子 tamalin を単離し、tamalin が、グループ 1mGluR の輸送に重要であることを明らかにした。

以上の研究は、様々な脳機能の発現に重要なグループ 1mGluR を制御する新たな結合蛋白を見出したものであり、脳機能の分子メカニズムの解明や新たな創薬開発にとって寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年2月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。