

氏 名	すぎ たく ま 杉 拓 磨
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 123 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 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	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	足場蛋白質Tamalinによる自己阻害型PDZドメインを介した代謝型グルタミン酸受容体の膜輸送制御に関する生化学的及び構造学的研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 佐 邊 壽 孝	教 授 竹 安 邦 夫	教 授 渡 邊 大
--------	----------------------	-------------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

代謝型グルタミン酸受容体（以下、mGluR）は、神経シナプス膜において、神経伝達物質グルタミン酸を認識し、G蛋白質共役型受容体として、興奮性の神経伝達を調節している。このようなmGluRの機能が発揮されるためには、シナプス膜への適切な輸送が必須である。しかし、その分子機構は未だ不明である。

これまでの研究において、mGluRの膜輸送を制御する蛋白質としてTamalinが同定されていた。Tamalinは、複数のドメインを有することから、同時に複数の蛋白質を結合することのできる足場蛋白質として機能することが予想されてきた。予測されるドメイン構成の中でも、特に、PDZドメインは、mGluRの細胞内領域のC末端リガンドを結合することから、mGluRの膜輸送に中心的な役割を果たしていることが示されてきた。一方で、Tamalinは、重要な特徴として、C末端に自らのPDZドメインに結合することのできる配列を有していることが報告されている。したがって、Tamalinは、自らのC末端リガンド（以下、内在リガンド）とmGluRのC末端リガンドの両方を区別しなければならないことから、私は、PDZドメインと内在リガンドを介したmGluRの結合の制御がその膜輸送に重要な役割を果たしているのではないかと考えた。

本研究では、構造学的手法及び細胞生物学的手法により、Tamalinが自己阻害型会合を行い、mGluRの膜輸送を制御することを明らかにした。mGluRの局所的濃度が低い時、TamalinはPDZドメインとそのC末端内在リガンドの相互作用により自己会合し、自らの膜輸送活性を抑制した。X線結晶構造解析から、PDZドメイン及び内在リガンドの相互作用は、既知のPDZ／リガンド結合様式だけでなく、新たなリガンド結合様式及びPDZドメイン同士の会合様式を含んでいることが明らかとなった。一方、酵母及び哺乳動物細胞を用いた実験から、mGluRはその局所濃度が上昇するにつれて、PDZドメインへの結合が可能になり、その結果、解放された内在リガンドはモーター蛋白受容体に結合し、mGluRは三者複合体として膜輸送されることが示された。これらの結果は、脳神経系において最も重要なPDZドメインの制御に斬新かつ新規的概念を与え、また、Tamalinはこの制御機構を利用して、mGluRとの会合に依存して、膜輸送活性型及び不活性型状態を切り替え、その膜輸送量を調節することを示している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

代謝型グルタミン酸受容体（mGluR）は、神経シナプス膜において、神経伝達物質グルタミン酸を認識し、興奮性の神経伝達を調節している。このようなmGluRの膜輸送には足場蛋白質であるTamalinが関与していることが報告されていたが、詳細な分子機構については未解明であった。またmGluRはG蛋白質共役型受容体（GPCR）として機能するが、mGluRを含むGPCRの膜輸送の分子機構も殆ど分かっていない。本論文において、著者らは、構造学的手法及び生化学的手法を利用して、TamalinによるmGluRの膜輸送の分子機構を解明することを試みた。

著者らは、まずTamalinのPDZドメインが、mGluRだけでなく自身のC末端領域に存在する内在性のリガンドを認識することに着目し、PDZドメインによる2種類のリガンドの構造的識別が、mGluR膜輸送の分子機構に重要な役割を果たしてい

るのではないかと仮説とたてた。そこで、TamalinとmGluRの相互作用を酵母ツーハイブリッドシステムにより解析した結果、TamalinはmGluRとの結合がない状態では、内在性リガンドとPDZドメインにより自己阻害的な会合状態を形成していることを明らかにした。さらに、X線結晶構造解析を行い、Tamalinの自己阻害会合状態が、既知のPDZ/リガンド結合様式だけでなく、新たなリガンド結合様式及びPDZドメイン間の会合様式を含んでいることを明らかにした。一方で、酵母ツーハイブリッドシステムによる解析から、mGluRは、その局所濃度の上昇に伴って、TamalinのPDZドメインへ競合的に結合し、その結果、Tamalinの内在性リガンドが解放されることを示した。培養細胞を用いた再構成実験から、解放された内在性リガンドがモーター蛋白受容体に結合し、mGluRは三者複合体として膜輸送されることを示した。これらの結果から、著者らは脳神経系機能において重要なPDZドメインのリガンド認識機構の一つとして自己阻害機構を提唱し、また、Tamalinがこの分子機構を基に、mGluRとの会合依存的に、膜輸送活性型及び不活性型状態を切り替えることを示した。

本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。本学位申請は去る平成19年4月18日に学位公聴会が開かれ、発表とその後の質疑応答の結果、合格と認められた。