

京都大学	博士（医学）	氏 名	大見 奈津江
論文題目	Mutation of Dock5, a member of the guanine exchange factorDock180 superfamily, in the Rupture of Lens Cataract mouse (白内障モデルマウス RLC における Dock180 ファミリーDock5 の変異)		
(論文内容の要旨)			
レンズは最も単純な組織構築をもちながら、光学的に高度に分化した機能を担っており、その発生、機能には多くの遺伝子が働いている。遺伝的白内障モデルマウスはこれらの遺伝子を同定し、レンズ機能を分子細胞学レベルで理解するための有用なツールである。 Rupture of Lens Cataract (RLC)は、松島、飯田らにより発見されたレンズ後極の破綻とこれに続く核の逸脱を特徴とする自然発症カタラクトマウスモデルである。第 14 染色体上の単一劣性遺伝子 <i>rlc</i> による。本研究は責任遺伝子をポジショナルクローニングにより同定するため、詳細マッピングによるデータにもとづき、RIKEN Mouse cDNA ライブラリー (FAMTOM) を参照し、RLC マウスの cDNA シーケンスを行った結果、<i>Dock5</i> の ORF 配列上に in-frame の 27 塩基の欠損を発見した。この欠損はゲノムシーケンス上でも RLC 系に特異的に確認された。この変異アレルを <i>Dock5^{le}</i> と命名した。欠損部は第 15 エキソンの 3’ 末端であるが欠損部両端に 7 塩基対の同一配列が観察され、この変異が DNA polymerase slippage によるものであることを示唆していた。 この遺伝子がコードするタンパクは細胞内シグナリングにかかわる DOCK ファミリーの一員である DOCK5 である。現在知られている 11 のメンバーのうち、最もよく研究されているのは最初に発見されたヒト DOCK180 である。DOCK180 は CrkII や ELM0 と複合体を形成し、Rac1 に対して GDP を GTP に変換させるグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) として作用する。DOCK5 は DOCK180 と同じサブファミリーA に属し、GEF 機能を持つことが確認された。RLC マウスの DOCK5 は遺伝子の 27 塩基対欠損の結果、DHR-1 ドメイン上に 9 アミノ酸(506-514)の欠損をおこしていた。欠損部は進化上よく保存されている配列である。 DOCK5、DOCK180 に対する抗体によるウエスタンブロットを行ったところ、RLC 系の組織では DOCK5 はコントロール系 BALB/c 系に比べ著明に低下示していたが、DOCK180 については両系で差を認めなかった。レンズの DOCK5 免疫染色では野生型 BALB/c マウスのレンズでは上皮細胞の細胞質に陽性であったが、RLC ではほとんど検出できなかった。定量的 RT-PCR で <i>Dock5</i>、<i>Dock180</i> の cDNA 発現を比較したところ、いずれも RLC、BALB/c の両系統で同等レベルの発現がみられた。RLC における DOCK5 の欠損部は GTP-交換に重要な DHR1 ドメインにあるため、GTP-交換能の特異的欠損が想定されていたが、発現データから、RLC の変異は DOCK5 タンパクの不安定さを増すことによるもの大きいと考えられた。 レンズの発生については分子生物学的な解析が進んでいるが、発育期のレンズの形態保持についてはこれまでほとんど研究がなかった。Rao らは lovastatin により small Rho GTPases を抑制すると後極レンズ破裂が誘発されると報告している。本研究は DOCK5 の in vivo における役割を始めて明らかにするとともに、DOCK5-Rac1 を介するシグナル経路が発育期のレンズで重要性を明らかにしたものである。			

（論文審査の結果の要旨） <u>R</u>upture of <u>L</u>ens <u>C</u>ataract(RLC)は、自然発症の白内障モデルマウスで、生後約35日頃にレンズ後極の破綻という特徴的な表現型を示す。詳細なハプロタイプ解析の結果、単一劣性遺伝子が原因で、責任遺伝子は第14染色体上にあることが判明した。更にマイクロサテライトマーカーでD14Mit86からD14Mit87の1.6Mbp領域内に絞り込み、この範囲に存在する遺伝子ならびにESTについて、RLCのレンズからRNAを抽出しcDNAの塩基配列決定を行った。その結果、D14Mit28マーカーの近傍にあるDock5遺伝子のエキソン15に、9アミノ酸分27塩基のin frameの欠損が発見され、この欠損はRLCゲノム上でも確認できた。Dock5は、癌遺伝子産物 Crk に結合する分子として1996年に報告されたDock180と高い相同性を有する分子であった。Dock5の発現解析の結果、RLCにおけるDock5は27塩基の欠損があってもRNAの転写は行われるが、蛋白の発現が低下することが明らかとなり、RLCの欠損領域がDOCK5タンパクの安定に重要であることが示唆された。 以上の研究は、ポジショナルクローニング法によりマウス遺伝的白内障RLCの遺伝子変異を解明し、Dock5のin vivo機能の一端をあきらかにしたものであり、白内障の病態解明に貢献するところが大い。 したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成20年5月14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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			