

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 原口 景子

本論文は *drosophila discs-large (dlg)* 遺伝子産物のヒトホモログ hDLG 結合因子 DAP (hDLG-associated protein) -1 に着目し、yeast two-hybrid system を用いて DAP-1 結合因子の探索を行い、新規遺伝子 dynein light chain (DLC)-2 を単離し、DAP-1 さらに DLC-2 の機能解析を行った研究である。

DAP-1 は 5 つの 14 アミノ酸リピートと 3 つのプロリンリッチなドメインからなり、発現は脳特異的である。DAP-1 は 14 アミノ酸リピートを介して hDLG のほか NMDA レセプターや shaker 型 K⁺チャンネルのクラスタリングを引き起こす post-synaptic density (PSD)-95 のグアニレートキナーゼ様ドメインに結合し、ラット脳において NMDA レセプターの R2 サブユニット (NMDA-R2)、PSD-95 さらに癌抑制遺伝子産物 APC と複合体を形成している。また DAP-1 には hDLG/PSD-95 以外に neurofilament や F-actin 結合蛋白質 vinculin、cortactin と結合する nArgBP2 や shank/symammon が結合し、DAP-1 は細胞骨格と相互作用している可能性が示唆されている。

本論文では DAP-1 結合因子の検索を行い、human dynein light chain (DLC)-1 と相同性が高い (93% identity and 98% similarity) 新規遺伝子 DLC-2 を報告した。Dynein light chain は微小管マイナス端方向へ移動するモーター蛋白質 dynein の light chain subunit であり、actin 依存性モーター蛋白質 myosin の subunit でもある。DLC-2 は 89 アミノ酸からなる分子量約 8 kDa の蛋白質で、DAP-1 の中央領域 673~684 アミノ酸を介して DAP-1 と結合する。ラット脳において DLC は NMDA-R2、PSD-95、DAP-1 さらに神経型 NO 合成酵素 (nNOS) と複合体を形成し、DAP-1 は DLC-2 のみならず、nNOS と直接結合することが明らかになった。また DLC-1 は nNOS の酵素活性を負に制御することが報告されているので、DLC-2 および nNOS と直接結合する DAP-1 は nNOS の酵素活性に影響を与えるかどうか検討を行ったが、これらの nNOS 酵素活性に対する影響は観察されなかった。CHO 細胞において NMDA レセプターや PSD-95 を発現させるとこれらは主に Triton X-100 可溶性画分において検出されるが、DAP-1 を発現させると NMDA レセプターと PSD-95 は Triton X-100

不溶性画分において検出される。そこで HEK293 細胞に nNOS と DAP-1 を発現させると、DLC-2 の発現量に関係なく Triton X-100 可溶性画分において検出される nNOS が減少する一方、Triton X-100 不可溶性画分において検出される nNOS が増加することが明らかになった。

本研究は DAP-1 結合因子として新規遺伝子 DLC-2 を単離し、DAP-1 及び DLC-2 の機能解析を行ったもので当該研究分野の進歩に資するところが大きい。従って、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。