

## 論文内容の要旨

論文題目： Molecular analysis of GluR $\delta$ 2 interacting proteins

### グルタミン酸受容体 GluR $\delta$ 2 会合分子の解析

指導教官 三品 昌美 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成11年4月 入学

医学博士課程

機能生物学専攻

氏名： 植村 健

グルタミン酸受容体 (GluR) チャネルは、中枢神経系における速い興奮性シナプス伝達を担うとともに、神経ネットワーク形成及び記憶・学習の基礎と考えられるシナプス可塑性に深く関与している。GluR $\delta$ サブユニットファミリーは、遺伝子クローニングにより初めて存在が明らかにされ、アミノ酸配列の相同性から NMDA 型と非 NMDA 型 GluR サブユニットファミリーの中間に位置づけられる。GluR $\delta$ 2 は小脳プルキンエ細胞特異的に発現し、プルキンエ細胞の平行線維シナプスに局在する分子である。GluR $\delta$ 2 は小脳平行線維—プルキンエ細胞間のシナプス可塑性である長期抑圧 (LTD) と運動学習に必須であり、またシナプス形成に重要な役割を担うことが GluR $\delta$ 2 欠損マウスの解析から明らかになっている。しかしながら GluR $\delta$ 2 の分子機能および生理的役割を担う分子機構は今までのところ全く不明である。従って、我々は GluR $\delta$ 2 の小脳機能における役割を分子的に解明する目的で GluR $\delta$ 2 と細胞質内で結合する分子を yeast two-hybrid screening により探索した。その結果、新たな GluR $\delta$ 2 結合蛋白として Shank を同定した。GluR $\delta$ 2 と Shank との結合は yeast 細胞内のみならず遺伝子導入した哺乳類細胞においても

確認され、また小脳のシナプトゾームからも GluR $\delta$ 2-Shank 複合体を免疫共沈降することが可能であった。さらに培養プルキンエ細胞の樹状突起において GluR $\delta$ 2 と Shank が共存することが明らかとなった。次に、遺伝子導入した yeast 細胞中、哺乳類細胞中および精製蛋白を用いた *in vitro* の系で GluR $\delta$ 2-Shank の会合部位の探索を行い GluR $\delta$ 2 細胞質内領域の中間に位置する部位が Shank の PDZ 領域と結合することを見いだした。現在までに GluR $\delta$ 2 細胞内領域には第四膜貫通領域の近傍に細胞膜への輸送に重要な部位、C 末端に PDZ 蛋白質結合部位が同定されているが、我々が新たに GluR $\delta$ 2 で同定した部位はこれらとは異なる機能的に重要な領域である可能性が考えられる。Shank は様々なタンパク質結合ドメインを有する後シナプス肥厚部の足場蛋白質であり proline-rich 領域で Homer と結合している事が知られておりまた SH3 ドメインを介して PDZ 蛋白 GRIP と結合することが報告されている。一方、GRIP は PDZ 領域で AMPA 型 GluR (AMPA) の細胞内 C 末端部位に結合することが知られている。Homer は N 末端側の領域で group 1 代謝型 GluR (mGluRs)、イノシトール 3 リン酸 (IP3) 受容体と結合し、また C 末端側領域を介して二量体を形成することから Shank と group 1 mGluRs、IP3 受容体とを間接的に結合させると考えられる。これらの報告から Shank は Homer を介して mGluR1、IP3 受容体と、GRIP を介して AMPAR と間接的に結合し後シナプス部位における足場蛋白の中心的役割を果たしていると考えられている。これら mGluR1、IP3 受容体、AMPA はいずれも小脳 LTD に重要な分子である。従って GluR $\delta$ 2 と Shank の会合の発見は LTD に重要な蛋白群の新たな複合体の存在を示唆するものであり、Shank は GluR $\delta$ 2 と AMPAR、IP3 受容体、mGluR1 とを分子的に結びつける要に位置すると考えられる。また Shank は発達段階におけるシナプスの成熟に重要な機能を果たすことが報告されており、GluR $\delta$ 2 がシナプス形成に重要であるとの知見から、GluR $\delta$ 2 と Shank の会合はシナプス形成における GluR $\delta$ 2 の分子機能を解明するうえでも重要であると考えられる。