

課程博士

坂西義史 (ばんざい よしふみ)

博士(薬学)

博薬 第 1 0 8 4 号

平成16年 3月 25日

WASP(Wiskott-Aldrich syndrome protein)ファミリータンパク質 CR16 の機能解析

(主査) 東京大学

教授 竹縄 忠臣

教授 新井 洋由

教授 関水 和久

助教授 青木 淳賢

講師 東 伸昭

使用文書ファイル 坂西義史審査結果.pdf Adobe Acrobat Windows XP

WASP(Wiskott-Aldrich syndrome protein)ファミリータンパク質は低分子量 G タンパク質 Cdc42 からのシグナルを受け取り、アクチン重合を促す Arp2/3 複合体を活性化させるタンパク質であり、生体内のアクチン細胞骨格制御において重要な役割を担っている。また WIP (WASP-interacting protein)ファミリータンパク質は、生体内で WASP ファミリータンパク質と結合しているタンパク質であり、哺乳類では WIP, WICH, CR16 の3つが見いだされている。近年、WIP を欠損した T 細胞では、WASP を欠損した T 細胞と同様に、抗原受容体がひきおこすシグナリングに異常が見られることが報告され、WIP は WASP と共に生体内での正常なアクチン重合の制御に重要な機能を果たしていることが明らかになり、WIP ファミリータンパク質の生理的役割について注目されていた。本論文において申請者は、WIP ファミリータンパク質の一つ CR16 に注目し、その詳細な発現プロファイルとタンパク質局在を明らかにすると共に、CR16 遺伝子を欠失したマウスを作製し、CR16 タンパク質が果たす役割について明らかにした。

具体的には、本論文で申請者は、マウス CR16 遺伝子をクローニングした。そして、CR16 タンパク質を特異的に認識する抗体を作製し、CR16 タンパク質が脳と精巣に存在することを示した。そして CR16 タンパク質が N-WASP と生体内で複合体を形成していることを示した。これらのことから、申請者は CR16 タンパク質が N-WASP と協調して脳と精巣で機能している可能性を指摘した。申請者はさらに CR16 タンパク質の機能を解析するため、CR16 遺伝子を LacZ(β -ガラクトシダーゼ)遺伝子に置換する方式の遺伝子ノックアウトベクターを作製し、CR16 遺伝子欠失マウスを作製した。ヘテロ遺伝子欠失マウスを解析した結果、CR16 遺伝子は海馬錐体細胞・顆粒細胞ならびに精巣セルトリ細胞に発現していることが示された。また、ホモ遺伝子欠失マウスを解析した結果、精子形成異常による雄性不稔を生じていることが示され、CR16 タンパク質が生殖において重要な役割を果たしていることが明らかになった。そして申請者はホモ遺伝子欠失マウスの精巣を電子顕微鏡等を用いて詳しく解析し、CR16 遺伝子の欠損がセルトリ細胞のアクチン細胞骨格の異常を生じていること、セルトリ細胞 - 精子細胞間ジャンクション(SSpJ)の異常を生じていることを示した。また、申請者はこれらの表現型を生じせしめる分子生物学的な機構についても検討し、CR16 タンパク質が、N-WASP が SSpJ に局在するために必要であることを示した。

以上の知見は、動物個体レベルでの CR16 遺伝子の機能についての初めての報告であり、意義深いものである。またさらに、これらの知見が他の WIP ファミリー遺伝子の知見と比較検討されることで WIP ファミリー遺伝子全体の解析を進める上でも有用である。本論文の成果は、精子形成に関わる生理学ならびに WIP ファミリータンパク質・細胞間接着に関わる分子生物学の発展に大きく寄与すると考えられることから、博士(薬学)の学位の授与に値すると判定した。