

## 審査の結果の要旨

氏名 安村 美里

本研究は、小脳平行線維-プルキンエ細胞間シナプスの可塑性である LTD の誘発、運動学習、シナプス形成に重要な役割を果たしているグルタミン酸受容体 GluR $\delta$ 2 の分子機能と生理的役割を担う分子機構を明らかにする目的で、GluR $\delta$ 2 の PDZ 結合領域欠損マウスの作製及び解析と GluR $\delta$ 2 欠損マウスのプロテオーム解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 標的遺伝子組換えにより、細胞質内の中間領域に存在する PDZ 結合領域である S segment を欠損させた C57BL/6 系統由来の ES 細胞を用い、S segment を欠損させた GluR $\delta$ 2 を持つ遺伝子改変マウス(GluR $\delta$ 2 $\Delta$ S マウス)を作製した。
2. GluR $\delta$ 2 $\Delta$ S タンパク質の発現量を、小脳ホモジネートを用いて生化学的に解析したところ、野性型マウスの GluR $\delta$ 2 タンパク質に比べて有為に減少していた。
3. GluR $\delta$ 2 $\Delta$ S タンパク質の細胞内局在を生化学的に解析したところ、PSD 画分では野性型マウスの GluR $\delta$ 2 タンパク質よりも有為に減少していた。野性型の GluR $\delta$ 2 タンパク質は PSD 画分に濃縮することが知られており、GluR $\delta$ 2 $\Delta$ S タンパク質の減少率が小脳ホモジネートよりも PSD 画分で有為に大きかったことから、S segment が GluR $\delta$ 2 のシナプス部位への局在に重要であることが示唆された。
4. 電子顕微鏡解析で平行線維-プルキンエ細胞間シナプスの構造を調べた結果、プルキンエ細胞のスパン密度に変化は見られなかった。しかしながら、GluR $\delta$ 2 欠損マウスで見られるような、平行線維終末のアクティブゾーンよりもプルキンエ細胞スパンの PSD の方が長くなるミスマッチシナプスや、PSD は有するが平行線維終末との接触が消失したフリースパンの出現が観察された。
5. 免疫染色法を用いて、プルキンエ細胞の樹状突起上の登上線維の支配領域を調べたところ、本来の近位樹上突起から遠位樹上突起へと支配領域が拡大していることが示された。
6. GluR $\delta$ 2 $\Delta$ S マウスは野生型マウスと同様に一定の歩幅で直線上を歩くことができる。また、定速の rotarod テストを行った結果、野生型マウスと比較して performance の向上に差が見られないことから、S segment は運動協調に関与していないことが示唆された。
7. 二次元電気泳動法を用いて、野生型マウスと GluR $\delta$ 2 欠損マウスの小脳タンパク質の発現パターンの比較を行った。再現性よく分離し、GluR $\delta$ 2 欠損マウスで有為に発

以上、本研究は GluR $\delta$ 2 の S segment を欠損させたマウスの解析から、S segment が GluR $\delta$ 2 の効率的なシナプス局在に重要な役割を果たしているが、運動協調には関与していないことを明らかにした。もうひとつの PDZ 結合領域である T site の解析報告と合わせると、2つの PDZ 結合領域は GluR $\delta$ 2 が果たす多様な分子機能において異なった役割を果たしていることが明らかとなった。また、プロテオーム解析で同定されたタンパク質の減少は GluR $\delta$ 2 欠損マウスで見られる表現型に関与している可能性があり、シグナル伝達機構の解明にプロテオーム解析が有用であることを示唆している。本研究は GluR $\delta$ 2 の分子機能と生理的役割を担う分子機構の解明に大きく貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。