

審査の結果の要旨

氏名 尹 喜 玲

本研究はキネシンスーパーファミリー(kinesin superfamily proteins、KIFs)のメンバーである KIF17 の生体内での役割及び細胞内での分子機能を明らかにするため、KIF17 遺伝子欠損マウスを作成し、解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 相同組み換えによって KIF17 分子の ATP 結合領域である exon と PGK-neo カセットが組み変わるよう **targeting vector** を作成した。電気穿孔法により **targeting vector** を ES 細胞に導入して、薬剤耐性を指標として組み換え体を選別した。相同組み換え体をさらに培養して、blastocyst の胚盤腔に注入し、キメラマウスを得た。キメラマウスと野生型雌マウスを交配し、仔の遺伝子型を PCR 法で検定し変異 ES 細胞の生殖細胞系列への寄与を確認した。さらに、変異を持つヘテロマウスどうしを掛け合わせることで、KIF17 遺伝子欠損ホモマウスを得ることに成功した。
2. *Kif17* 遺伝子欠損マウスの脳組織の抽出液を用いてウェスタン・ブロッティングを行ったところ、NMDA レセプター受容体サブユニットの NR2A と NR2B の量が減っていた。
3. *Kif17* 遺伝子欠損マウス海馬ニューロンの初代培養細胞を作成し、NR2B-YFP 遺伝子を導入してその動態を追跡したところ、NR2B の樹状突起内トランスポートが低下している所見を得た。
4. マウス脳の急性スライスを使用した電気生理実験では、テタヌス刺激によって誘発される長期増強現象と、NMDA 受容体依存性興奮性シナプス後電流がノックアウトマウスのスライスで低下していた。
5. *Kif17* 遺伝子欠損マウスは、空間記憶の獲得に遅延が認められた。
6. KIF17、NR2B と CREB pathway を構成する蛋白の関係について調べた。神経刺激または空間記憶トレーニングによる CREB 活性化がノックアウトマウスでは不十分であった。以上より、分子モーターによるレセプター輸送が神経可塑性を維持するために必須のメカニズムであることを、初めて個体レベルで証明した。

以上、本論文は新たに作成した KIF17 遺伝子欠損マウスを使用し、電気生理学を応用した

解析を行ったこと、さらに行動学・細胞生物学等の方法論を組み合わせることによって、実際に *in vivo* の神経回路網に於いて KIF17 が行う NMDA レセプター輸送が学習・記憶にどのように関与していることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、KIF17 の特異な役割を明らかにしたのみならず、学習・記憶障害の病態機序の解明ひいては治療法の開発に重要な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。