

## 審査結果の要旨

氏名 小田柿 敦士

本研究は、キネシンモータータンパク質の一つ KIF1B $\beta$ の分子レベルでの働きを解明するために、KIF1B 欠損マウスの個体や神経細胞を材料として解剖学的、組織学的、生化学的、細胞生物学的な解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型と KIF1B 欠損マウスの脳を比較した結果、KIF1B 欠損型では嗅球の縮小が生じることが明らかになった。さらに組織学的解析によりこの嗅球形成不全が rostral migratory stream を通じた前駆細胞の移動が障害されていることによるものだと示された。
2. ゲノム上に LacZ 遺伝子が組み込まれた KIF1B-3loxP マウスを用いて脳内における KIF1B の発現を共発現した LacZ を染色することにより解析したところ、KIF1B は前駆細胞の移動経路上に多く発現していることが明らかになった。このことから KIF1B 欠損マウスの嗅球縮小は前駆細胞自体に何らかの異常が現れることによって生じるということが示唆された。
3. マウスの脳ホモジェネートから抗 KIF1B $\beta$ 抗体を用いて免疫沈降して得られた KIF1B $\beta$ 結合タンパクをマススペクトロメトリーで解析、同定したところ、嗅球形成に関与する因子 NCAM-180 が得られた。この結果が確かなものか調べるため、ポリシアル酸で修飾された NCAM-180 (PSA-NCAM)に対する抗体を用いて、フローテーションアッセイおよび免疫沈降による解析を行ったところ、分画した組織中で PSA-NCAM は確かに KIF1B $\beta$ と同じフラクションに存在し、かつ KIF1B $\beta$ と共沈することが示された。この PSA-NCAM との共沈は KIF1B $\beta$ の相同タンパクである KIF1A では認められなかった。
4. 培養神経細胞に対し抗 KIF1B $\beta$ 抗体および抗 PSA-NCAM 抗体による二重染色を行ったところ、KIF1B $\beta$ と PSA-NCAM は軸索内で共局在していることが示された。一方、同様の実験を抗 KIF1A 抗体および抗 PSA-NCAM 抗体を用いて行ったところ、KIF1A と PSA-NCAM は軸索内で局在が全く異なることが示された。
5. 野生型と KIF1B 欠損型の培養神経細胞における PSA-NCAM の局在を抗

PSA-NCAM 抗体を用いて細胞を染色することによって調べたところ、野生型では細胞膜および神経突起の先端に PSA-NCAM が局在したのに対し、KIF1B 欠損型では細胞体に蓄積した。

6. KIF1B $\beta$ に対する miRNA を用いて KIF1B $\beta$ をノックダウンした培養神経細胞の PSA-NCAM の細胞内局在をコントロール(scrambled miRNA)の神経細胞と比較したところ、コントロールでは細胞膜および神経突起の先端に PSA-NCAM が局在したのに対し、KIF1B $\beta$ ノックダウン神経細胞では細胞体に蓄積した。

以上、本論文はモーター分子 KIF1B $\beta$ が嗅球前駆細胞の移動に必須の因子である PSA-NCAM を細胞膜および神経突起の先端にまで輸送することを明らかにした。そしてこのことは KIF1B 欠損マウスの嗅球形成不全とよく合致している。本研究は嗅球の正常発達における KIF1B $\beta$ の新しい機能を示唆しており、学位の授与に値するものと考えられる。