

論文の内容の要旨

論文題目 A study of the intracellular dynamics of RNA Binding Protein Pura α in neurons

(RNA 結合蛋白質 Pura α の神経細胞内輸送動態の研究)

氏名 三守和彦

1 本鎖DNA、RNA結合蛋白質である Pura α は、神経細胞樹状突起においてメッセンジャーRNAを輸送する蛋白-RNA複合体の構成要素の1つであり、キネシンスーパーファミリー5 (KIF5) によって運ばれる事が最近示された。しかし、神経細胞におけるその局在や動態などの詳細な報告はなされてこなかった。近年、キネシンスーパーファミリー蛋白による細胞内輸送がシナプス可塑性に関与している例が見つかり、注目を集めている。従って、この蛋白-RNA複合体の輸送が神経細胞の活動依存的に発生するシナプスでの局所的蛋白合成に寄与している可能性を検討することは神経可塑性のメカニズムを明らかにする上で重要なステップであると考えられる。そこで、本研究では、Pura α に注目して、その局在とダイナミクスを特にシナプスとの関係に注目して検討した。

まず、Pura α は樹状突起のシャフトだけでなくスパインにも局在するが、KIF5により運ばれる別のRNA結合蛋白質 Staufen1(Stau1)は主にシャフトのみに局在することが示された。

さらに Pura α と Stau1 の局在を調べた所、スパインがあまり発達していない未熟な樹状突起では両者はよく共局在するが、スパインの発達した成熟樹状突起では Stau1 と共局在しない Pura α が出現してくる事が示された。

次に、Pura α と Stau1 の動きを調べた。すると、樹状突起が成熟するに従い、動きが減少する事が示された。さらに、成熟した樹状突起では、Stau1 の局在しない Pura α の方が Stau1 の局在する Pura α より動きが少ない事が示唆された。

Pura α と Stau1 の動態の比較を蛍光消褪後回復法 (FRAP) により行った。その結果、Pura α は褪色後30秒以内に半分の蛍光が回復し、速い動態を示した。一方、Stau1はそれよりずっと遅い動態を示した。

RNA結合蛋白質の TLS が mGluR5 刺激によりスパインへ移行する事が報告されている。Pura α も mGluR5 刺激によりスパインへ移行するか検討を行った。グループ1 mGluR のアゴニストである DHPG で、YFP-Pura α を発現させた神経細胞を刺激した所、YFP-Pura α がスパインに集積する事が確認された。その現象は mGluR5 の阻害薬である MPEP で阻害された事から、mGluR5 を介したものであると考えられる。一方、Stau1 は DHPG で刺激してもスパ

インへの移行は見られなかった。

Pur α がスパインへ移行するメカニズムに関して調べた。スパイン内にはアクチンが多いことから、アクチン系モーター蛋白質の MyosinVa をノックダウンした所、Pur α のスパイン内の量が減少した。さらに、DHPG で刺激しても Pur α のスパイン内の量は変化しなかった。よって、Pur α のスパインへの移行は平常時、刺激時共に MyosinVa によってなされる事が示された。

以上、本論文は Pur α と Stau1 の成熟樹状突起での局在と動態の違いを示し、更に刺激依存的な Pur α のスパイン集積に MyosinVa が関与することを明らかにした。本論文で得られた知見は Pur α が RNA 輸送複合体の重要な構成要素であることを示唆しており、後シナプス領域での局所的蛋白質合成研究の基礎となる可能性が期待される。