

審査の結果の要旨

氏名 三守和彦

1 本鎖DNA、RNA結合蛋白質である $Pur\alpha$ 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。本研究は $Pur\alpha$ に注目し、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ものであり、下記の結果を得ている。

1. $Pur\alpha$ 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 $Staufen1(Stau1)$ は主にシャフトに局在することが示された。
2. $Pur\alpha$ と $Stau1$ の局在をさらに調べた所、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 $Pur\alpha$ が出現してくる事が示された。
3. $Pur\alpha$ 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 $Pur\alpha$ の方が $Stau1$ の局在する $Pur\alpha$ より動きが少ない事が示された。
4. $Pur\alpha$ 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、 $Pur\alpha$ 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。
5. $Pur\alpha$ が 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- $Pur\alpha$ を発現させた神経細胞を刺激した所、YFP- $Pur\alpha$ 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。
6. $Pur\alpha$ 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、 $Pur\alpha$ のスパイン内の量が減少した。さらに、DHPG で刺激しても $Pur\alpha$ のスパイン内の量は変化しなかった。よって、 $Pur\alpha$ 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。本研究で Pur α を通して得られた知見は、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。よって、学位の授与に値するものと考えられる。