

氏 名 (本籍)	と だ ひろ ふみ 戸 田 浩 史 (東 京 都)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 5156 号
学位授与年月日	平成 21 年 4 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	<b>Genetic and Biochemical Analyses of <i>unc-51</i> kinase in Axonal Transport in <i>Drosophila</i></b> (ショウジョウバエの軸索輸送における <i>unc-51</i> キナーゼの遺伝学的、生化学的解析)
主 査	筑波大学准教授 理学博士 古久保一徳 永 克 男
副 査	筑波大学教授 理学博士 漆 原 秀 子
副 査	筑波大学教授 博士 (医学) 千 葉 智 樹
副 査	筑波大学准教授 医学博士 中 谷 敬

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

細胞内輸送は、細胞が正常に機能、生存するために必要不可欠な生物学的現象である。特に、長い軸索や、発達した樹状突起を持つ神経細胞においては、細胞体とシナプスの間の細胞内輸送の役割はきわめて重要であり、細胞内物質輸送の障害は、神経細胞死や神経変性疾患の直接の原因となっていると考えられている。細胞内輸送では、タンパク質や RNA などの高分子のみならず、ミトコンドリアや細胞内小胞などの様々な細胞内小器官が、積荷（カーゴ）として、分子モーターによって微小管にそって目的地に運ばれる。これまでに、細胞内輸送に関する様々な分子が同定され、それぞれの機能も明らかになってきている。しかしながら、細胞内輸送におけるカーゴと分子モーター複合体との結合・解離の制御機構はほとんど不明のままである。*unc-51* は、線虫の行動変異体のスクリーニングから同定された多数の変異体の一つであり、セリン・スレオニンキナーゼをコードしている。この遺伝子の変異体は、神経軸索の伸長と誘導に異常をきたすことが、線虫及びマウスを用いた研究から明らかになっており、*unc-51* は種を超えて神経形成機構に重要な役割を果たしていることが示唆されているが、その分子機構については断片的な知見しか得られていない。本研究では、神経形成回路における *unc-51* セリン・スレオニンキナーゼの機能を明らかにすることを目的に、分子遺伝学的手法により *unc-51* 遺伝子機能を完全に欠く変異体をし、神経形成過程における生化学的、遺伝学的解析を行った。その結果、変異体では軸索束内にシナプス小胞やリソソームなどが顕著に蓄積していることが明らかになった。さらに、*unc-51* の軸索輸送に関する詳細な役割を調べるため、分子生物学的解析により UNC-76 が UNC-51 のカルボキシ末端に結合することを見いだした。UNC-76 は、キネシン重鎖 (KHC) 結合部位をもつ構造タンパク質であり、カーゴとモーターとのアダプター分子として機能することが知られている。共免疫沈降実験や GST pull-down 検定などの生化学的な解析により、UNC-76 が UNC-51 と直接結合すること、キネシン重鎖 (KHC, Kinesin-1) と UNC-51 は UNC-76 を介して複合体をなすことが明らかにされた。また、UNC-76 のセリン残基 (UNC-76/S143) が UNC-51 によってリン酸化されることを示すと共に、リン酸化変異体 UNC-76/S143A、及び、模擬リン酸化変異体 UNC-76/S143D を作成し、*unc-76* 所機能欠失変異体が

示すシナプス小胞輸送異常は、野生型 UNC-76 の発現、もしくは UNC-76/S143D の発現により回復することができるが、UNC-76/S143A の発現では回復できないことを明らかにした。さらに、UNC-76/S143 のリン酸化が、代表的なシナプス小胞タンパクの一種であるシナプトタグミン 1 (Syt-1) と UNC-76 自身との結合を促す事を、共免疫沈降実験により見出した。UNC-76/S143D と Syt-1 は結合するが、UNC-76/S143A は結合できない事をしめし、UNC-51 キナーゼが UNC-76 タンパク質のリン酸化を介してモーター分子複合体とシナプス小胞との結合と解離を調節していることを明らかにした。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、ショウジョウバエを使用して進化的に保存された *unc-51* 遺伝子が神経細胞におけるキネシン依存的なシナプス小胞輸送に重要な機能を有しており、そのキナーゼ活性がシナプス小胞とモーター分子複合体の結合に必要不可欠であることを明らかにするものである。神経細胞における小胞輸送は、単なる受動的輸送ではなく、様々な分子や細胞内小器官ごとの選択的配送のみならず、神経細胞が示す樹上突起や軸索などの様々な分岐パターンに対する空間的选择性、さらに神経活動の変化を反映した時間的特異性を含む高度に動的な現象である。このような軸索輸送の動的調節の背景にある分子基盤は、未だほとんど解明されていない。本論文は、*unc-51* によるアダプタータンパク質のリン酸化が、神経軸索における小胞輸送の制御に重要な機能を持つことを示すものであり、*unc-51* 依存的なシグナルカスケードの更なる解析によって、細胞内輸送と神経伸長・回路形成との繋がり全体の全貌を解き明かすためのきわめて重要な手がかりを与えるものと高く評価される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものとして認める。