

氏名	増 本 年 男
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第4879号
学位授与の日付	平成25年12月31日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科生体制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目	Ca ²⁺ -independent syntaxin binding to the C ₂ B effector region of synaptotagmin (シナプトタグミンのC ₂ B ドメインエフェクター相互作用領域を介したシンタキシンへのCa ²⁺ 非依存性結合)
--------	--

論文審査委員	教授 筒井 公子 教授 竹居 孝二 准教授 寺田 整司
--------	-----------------------------

学位論文内容の要旨

シナプス小胞に存在する Ca²⁺結合タンパク質シナプトタグミンは、SNARE 介在性開口放出を引き起こすが、その詳細なメカニズムは不明である。特に両者の結合に関して、Ca²⁺が必要かどうかですら明らかとなっていない。この問題を明らかにするために、ラット脳可溶化物から免疫沈降し、イムノブロッティングにより調べた。シナプトタグミンの沈降に加え、Ca²⁺非存在下で SNARE 複合体との特異的な共沈が観察され、1 M NaCl 存在下では、その共沈は消失した。HEK293 細胞で発現させた組換えタンパク質を用いた結合実験において、シナプトタグミンは SNARE の 1 つであるシンタキシンとのみ特異的に結合した。シナプトタグミンの 3 つのリジン残基(Lys³²⁶、Lys³²⁷、Lys³³¹)に変異を導入すると、両者の結合は 90%減少した。さらに、シンタキシン上のシナプトタグミン結合部位も同定した。以上より、シナプトタグミンはシンタキシンを介して SNARE 複合体に Ca²⁺非依存性に結合することが明らかとなった。したがって、静止状態のシナプス前終末において、シナプトタグミンがシンタキシンと結合することで SNARE 複合体の働きを制御している可能性が考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、シナプス小胞の開口放出に関与する膜タンパク質シナプトタグミンと SNARE 複合体との結合を解析したものである。ラット脳可溶化物を抗シナプトタグミン抗体で免疫沈降し、Ca²⁺非存在下で SNARE 複合体が共沈することを見出した。SNARE 複合体はシンタキシン、SNAP-25、およびシナプトプレビンで構成されるが、シナプトタグミンはシンタキシンと Ca²⁺非依存性に結合することを HEK293 細胞で組換えタンパク質を発現させることにより明らかにした。さらに、シナプトタグミンとシンタキシンの結合部位を両タンパク質上で同定し、シナプトタグミンの C₂B ドメインに存在する 3 つのリジン残基とシンタキシンの SNARE モチーフに存在する複数のグルタミン酸残基が結合に関与していることを見出した。これらの知見は静止状態のシナプス前終末においてシナプトタグミンがシンタキシンと結合することで SNARE 複合体の働きを制御している可能性を示唆するもので、価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。