

医論第194号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

MINK is a Rap2 effector for phosphorylation of the postsynaptic scaffold protein TANC1

(MINK は Rap2 のエフェクターでありシナプス
後部足場蛋白 TANC1 のリン酸化に関与する)

氏名 野中 栄男



(目的)

低分子量 G 蛋白質 Rap2 は、*ras* 癌遺伝子産物の類縁分子である。Rap2 によるシグナル伝達の詳細は不明であるが、私共は Rap2 の特異的標的分子として mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase (MAP4K) の TNIK (Traf2- and Nck-interacting kinase) 及び Nck-interacting kinase (NIK、別名 MAP4K4) を同定していた。今回これらの類縁分子 Misshapen/NIKs-related kinase (MINK) を特異的標的分子として新たに同定したので報告した。

(方法)

GST-Rap2 融合蛋白質をリガンドとしたアフィニティーカラムでラット脳から結合分子を検索し、質量分析により同定した。また、酵母 Two-Hybrid 法でヒト胎児脳 cDNA ライブラリーから Rap2 結合分子を検索した。さらに、エピトープタグ付きの Rap2、MINK と、シナプス後部足場蛋白質 TANC1 を培養細胞に発現させ、細胞内局在やリン酸化状態を検討した。

(結果)

カラムに結合した 155 kDa のラット脳蛋白質を質量分析とウエスタンブロットにより MINK と同定した。酵母 Two-Hybrid 法でも MINK をコードするクローンを得た。MINK は Rap2 の標的結合領域のフェニルアラニン 39 を認識して GTP 型 Rap2 に結合したが、Ras や類縁分子の Rap1 とは結合しなかった。NIH3T3 細胞で MINK を発現すると、Rap2 の共発現により核近傍にリクルートされた。一方、私共は TANC1 が TNIK と結合することを見出していたが、MINK も TANC1 と結合した。さらに、293T 細胞で共発現すると、MINK は TANC1 を Rap2 の制御下にリン酸化した。ウエスタンブロットによる MINK の組織分布の検討では、脳で特に強い発現が見られた。

(考察)

MINK が GTP 型 Rap2 に結合したこと、Rap2 の標的結合領域のフェニルアラニン 39 を認識して結合し、セリン 39 を持つ Ras や Rap1 に結

合しなかったこと、細胞内で Rap2 にリクルートされ共局在したこと、Rap2 の制御下に TANC1 のリン酸化を促進したことから、MINK は Rap2 の特異的標的分子と考えられる。

一方、TANC1 は興奮性シナプス後部において PSD-95、SAP-97 等の足場蛋白質、グルタミン酸受容体、細胞骨格系分子など多彩な分子群と複合体を形成している。Rap2 は興奮性シナプスを抑制的に制御することが報告されており、今後は Rap2 と MINK を介した TANC1 のリン酸化の機能的意義を解析する必要がある。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	野中 栄男
論文審査委員	審査日	平成 20年 11月 28日	
	主査教授	高 須 信 行	
	副査教授	山 本 秀 幸	
	副査教授	高 山 千 利	
(論文題目)			
MINK is a Rap2 effector for phosphorylation of the postsynaptic scaffold protein TANC1 (論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
Rap2 は癌遺伝子産物 Ras の類縁分子である。そのシグナル機構の詳細は不明だが、著者らは Rap2 の特異的標的分子として mitogen-activated protein kinase kinase kinase (MAP4K) の TNIK (Traf2- and Nck-interacting kinase) 及び MAP4K4/Nck-interacting kinase (NIK) を同定していた。今回さらに TNIK、NIK の類縁分子 Misshapen/NIKs-related kinase (MINK) を特異的標的分子として新たに同定したので報告した。			
2. 研究内容			
Rap2 結合分子をまずアフィニティーカラムで検索し、155 kDa のラット脳分子を質量分析により MINK と同定した。酵母 Two-Hybrid スクリーニングでも MINK をコードするクローンを得た。MINK は Rap2 の標的結合領域のフェニルアラニン 39 を認識して GTP 型 Rap2 に結合したが、Ras や類縁分子の Rap1 とは結合しなかった。培養細胞で MINK を発現すると、Rap2 との共発現により核近傍にリクルートされた。一方、神経シナプス後部足場蛋白質 TANC1 が TNIK と結合することを著者らは見出していたが、MINK も TANC1 と結合し、これを Rap2 の制御下にリン酸化した。MINK は脳で特に強い発現が見られ、脳における Rap2 の特異的標的分子と考えられた。			
3. 研究成果の意義と学術的水準			
Rap2 が脳の興奮性シナプスを抑制的に制御することが判明しているが、本研究はその分子機構解明の端緒となりうる有意義で高い水準にある研究と考えられる。			
以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。			

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。