



Title	Function of a tyrosine kinase, Fyn, in the central nervous system : Identification of $\beta$ -adducin as a Fyn-binding protein and an analysis of the role of Fyn in the mechanism of circadian rhythm
Author(s)	島, 孝樹
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42533">https://hdl.handle.net/11094/42533</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	島 孝樹
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 15984 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Function of a tyrosine kinase, Fyn, in the central nervous system : Identification of $\beta$ -adducin as a Fyn-binding protein and an analysis of the role of Fyn in the mechanism of circadian rhythm. (チロシンキナーゼ Fyn の神経系における機能： $\beta$ -adducin の Fyn 結合蛋白質としての同定と概日リズム機能における役割)
論文審査委員	(主査) 教授 永井 克也
	(副査) 教授 岡田 雅人 教授 八木 健

### 論文内容の要旨

Src ファミリーチロシンキナーゼはN末端の脂肪酸付加部位を介して膜の裏打ちに結合している。Src ファミリーキナーゼは細胞内で様々な基質をリン酸化し、それ自身もリン酸化を受ける。また、Src ファミリーキナーゼにはリン酸化チロシン残基とその前後のアミノ酸配列と結合する SH2 ドメインが存在し、チロシンキナーゼと相互作用する蛋白質との会合に関与しているとされる。Src ファミリーのメンバーのひとつである Fyn は脳神経系に豊富に発現しており Fyn 欠損マウスでは脳での組織構築の異常、ストレスに対する感受性の亢進、恐怖感の増加などの表現系を示すことから Fyn の特異的な脳高次機能における役割が考えられてきた。

申請者は、まず、マウスの脳から FynSH2 ドメインと結合する蛋白質を同定した。その蛋白質は細胞骨格蛋白質である  $\beta$ -adducin であることがわかった。 $\beta$ -adducin の Fyn によるチロシンリン酸化を検討したところ、COS 7 細胞に  $\beta$ -adducin と Fyn を共発現させると  $\beta$ -adducin はチロシンリン酸化を受けることが確認された。また、 $\beta$ -adducin はリン酸化特異的に Fyn と共に沈していくことがわかった。またその結合は、Fyn の SH2 ドメインを介して行われることが明らかとなった。

さらに、COS 7 細胞に  $\beta$ -adducin と Fyn を発現させてこれら蛋白質の局在を検討したところ、単独では細胞質に存在する  $\beta$ -adducin が、Fyn と共に発現させることによって膜表面に移動し、Fyn と局在が一致することが明らかになった。また、Fyn と共に発現させて膜に移行した  $\beta$ -adducin はアクチンフィラメントと局在が一致することが明らかになった。

次に、Fyn が時刻発振の中枢である SCN に発現していたことから、Fyn ノックアウトマウスを用いて概日リズム形成に関して以下のような結果を得た。常暗条件下での Fyn ノックアウトマウスの輪回し行動を観測したところ、Fyn ノックアウトマウスは正常動物と比較して有意に長い周期を示した。12時間ごとの明暗条件下における観測では Fyn ノックアウトマウスも正常動物と同様に、明暗の周期に同調した。さらに、Fyn ノックアウトマウスの SCN の形態を検討した。SCN の腹外側部に存在する血管作動性腸管ペプチド (VIP) を含むニューロンの形態を見たところ、本来、視交叉と SCN の境界に存在している VIP ニューロンが視交叉の中に落ち込んでいるのが観察された。今回同定した  $\beta$ -adducin 蛋白質も SCN を含め脳内に普遍的に発現しており、Fyn ノックアウトマウスで配置に異常が認められた SCN、海馬ニューロンでの発現が確認された。

以上の結果から、Fyn は新たに細胞骨格系蛋白質である  $\beta$ -adducin と相互作用することが明らかになり、また、

サーカディアンリズムの制御に関与している可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、Src ファミリーチロシンキナーゼ Fyn の SH2 ドメインに結合する蛋白質として  $\beta$ -adducin を同定し、この蛋白質が Fyn によってそのチロシン残基のリン酸化を受けることを初めて示した。Fyn との相互作用の解析からそのリン酸化を介する結合が細胞骨格を制御する新しい機構である可能性を示唆している。また、Fyn ノックアウトマウスを用いて時刻発振中枢である SCN での組織構築異常と概日リズム周期の異常を発見し、脳神経系における Fyn の新たな機能を示したものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。