

論文内容の要旨  
申請者氏名 神奈亜子

細胞膜構成リン脂質、phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate, PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> はエンドソーム膜系において合成され、エンドソーム膜を介した物質輸送におけるシグナル分子として機能している。出芽酵母では、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>の存在量は、浸透圧変化など外界からの刺激の際に一過的に20倍以上に上昇し、その後急激に減少するなど、その存在量が厳密に調節されることが知られている。PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>の存在量は、リン脂質リン酸化酵素Fab1と、リン脂質脱リン酸化酵素Fig4により制御されている。Fab1はPtdIns3Pを基質としそのイノシトール環の5位にリン酸基を加え、一方で、Fig4はPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>を基質としその5位のリン酸基を除去しPtdIns3Pへと変換する。またVac7とVac14、及びAtg18は、それぞれPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>合成反応を正及び負に調節することが知られている。興味深い事に、Fig4とVac14は複合体を形成し、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>合成反応のみならずPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>からPtdIns3Pへの変換反応も制御することが報告されている。しかし、これらの因子群がどのように作用し合ってPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>の存在量を調節するのかについてはわかっていなかった。

本研究において、以下の事が明らかとなった。(1)Vac14はタンパク質間結合ドメインであるHEAT repeatを複数個持ち、Fab1、Fig4、Vac7、Atg18さらに自身と結合することにより巨大なタンパク質複合体を形成して、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>合成反応を制御する。(2)このVac14をコアとした巨大なタンパク質複合体は、急激な浸透圧変化における一過的なPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>量の上昇及び減少反応をも制御する。(3)この巨大なタンパク質複合体の形成が、Fab1とFig4の活性に必須であり、この調節機構は出芽酵母のみならず種を超えて保存されている。(4)Fab1、Fig4、Vac14は、タンパク質複合体において核となる三者複合体を形成する。(5)Vac7とAtg18は、Vac14上の同じ領域に結合する。

本研究により、これまで遺伝学的に同定されていた、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>合成/変換機構に関わる因子群が巨大なタンパク質複合体を形成して機能すること、そしてこの機構は種を超えて保存されていることなどが明らかとなった。哺乳類においては、遺伝子破壊マウスを用いた研究によりPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>が神経細胞の機能において重要な役割を担っている事、さらにPtdIns(3,5)P<sub>2</sub>量の異常がヒトの疾病の原因となりうることなど、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>の作用機構について新たな知見が報告され始めている。出芽酵母をモデルとした本研究が哺乳類のこれらの機能の理解に役立つと期待される。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 神奈亜子

申請者は膜動態を介した細胞内生理現象に興味を持ち、米国 University of Michigan の Weisman 博士の研究室において、酵母をモデル生物に用いて膜動態を制御する分子メカニズムの解明に努めた。その中でも、膜構成リン脂質のひとつである PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 合成に関わる分子機構に着目し研究を進めてきた。

これまでに酵母の遺伝学的な解析により PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 合成には、リン脂質リン酸化酵素 Fab1、リン脂質脱リン酸化酵素 Fig4、正の調節因子 Vac7 と Vac14、負の調節因子 Atg18 が関与することが知られている。申請者は、Vac14 がタンパク質間結合ドメインである HEAT repeat を複数個持つことに着目し、分子生物学的な種々の実験を行った結果、Vac14 が核となることで、既知の PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 合成因子群が大きなタンパク質複合体を形成し、これらの複合体が PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 合成反応や急激な浸透圧変化における一過的な PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 量の上昇及び減少反応などを制御することを見いだした。さらに Fab1、Fig4、Vac14 は、タンパク質複合体において核となる三者複合体を形成することや、正の調節因子 Vac7 と負の調節因子 Atg18 は Vac14 の同じ領域に結合するなど、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 合成制御分子機構を説明する新しいモデルを提唱することに成功した。

また申請者は、University of Michigan の Meisler 研究室との共同研究により、酵母で見出された上記の PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 合成制御機構が、脊椎動物など種を超えて広く保存されていることを示した。加えて、PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> が哺乳類神経細胞の機能において重要な役割を担っている事、さらに PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> 量の異常がヒトの疾病の原因となりうることなども報告している。申請者による数々の発見は、今後 PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> が関わる膜動態の研究に大きく貢献するものと思われる。これらの成果は、申請者が筆頭著者である論文 (The EMBO Journal (2008) 27, 3221-3234) などで報告されている。

以上のように、審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。