

氏名(国籍)	申 ^{しん} 憲 ^{へう} 媛 ^{おん} (韓国)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第2,015号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Identification and Characterization of a Novel Dynamin-Related Protein, DVLP (Dnm1p/Vps1p-Like Protein) (新奇のダイナミン様GTP結合タンパク質DVLPの構造と性質)
主査	筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌
副査	筑波大学教授 理学博士 斎 藤 建 彦
副査	筑波大学教授 理学博士 山 根 國 男
副査	筑波大学助教授 医学博士 中 山 和 久

論文の内容の要旨

ダイナミンは、細胞内において輸送小胞の形成に関与するGTP結合タンパク質の一種である。ダイナミンはファミリーを形成し、その一次構造上の特徴によりいくつかのサブファミリーに分類される。ダイナミン・サブファミリーには哺乳動物のダイナミン I, II, IIIが含まれ、Vps1サブファミリーには酵母のVps1pとDnm1pが含まれる。哺乳動物細胞において、ダイナミンは、細胞膜におけるクラスリン被覆小胞の出芽の際に、そのくびれの周りに自己集合してらせん状構造を形成し、自身のもつGTPase活性によりくびれを切り取って小胞の出芽を完成させる。一方、酵母のVps1pやDnm1pは、ゴルジ体からの輸送小胞の形成やエンドソームの機能に関係していると考えられる。しかしながら、Vps1pやDnm1pと同様の機能を果たすタンパク質は、哺乳動物では同定されていないかった。

以上のような背景のもとで行われた研究について、本論文では以下のような成果について述べている。まず、酵母Vps1pのアミノ酸配列をもとにしてESTデータベースを検索することにより、ヒトのVps1p類似タンパク質をコードすると考えられるcDNA断片を見出した。次に、このcDNA断片をプローブとして用いてヒト肝癌細胞のcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、全長cDNAをクローニングした。予想されるタンパク質は736アミノ酸残基からなり、DVLP (Dnm1p/Vps1p-like protein) と命名した。そして、DVLPは、その一次構造だけでなくドメイン構成においても、哺乳動物のダイナミンよりは酵母のDnm1pやVps1p に類似していることを明かにした。ノーザンブロット解析により、DVLPのmRNAは調べた全ての組織で発現していることを示し、細胞内で基本的な役割を果たしている可能性を示唆した。また、エピトープ・タグをつけたDVLPを発現した細胞を間接蛍光抗体法を用いて調べることにより、このタンパク質が核の周辺から細胞質全体に広がる斑点状の構造に存在しており、他のオルガネラのマーカータンパク質の局在とは明かに異なることから、これまでに知られてないオルガネラからの輸送小胞の形成に関与する可能性を示唆した。

一方、生化学的解析により、DVLPはダイナミンと同様に、生理的な塩濃度条件下で4量体として存在すること、低塩濃度条件下では重合体を形成することなどを明かにし、DVLPは、細胞内でダイナミンと同様の機能を果たす可能性を示唆した。さらに、酵母two-hybridシステムを用いた解析や免疫共沈法により、4量体を形成する際に関与するDVLPの各ドメイン間の相互作用を調べた。その結果、GTP結合ドメインとDVH1 (dynamin/Vps1 Homology 1) ドメイン (ダイナミン・サブファミリーとVps1サブファミリーの間で保存されている) を含む

N末端側の領域が、別の保存された領域DVH2ドメインを含むC末端側の領域と相互作用することを明らかにした。このデータに基づき、DVLPの4量体形成の新しいモデルを提案した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

小胞輸送に関与するGTP 結合タンパク質の一種であるダイナミン・ファミリーはさらにいくつかのサブファミリーに分類できる。本研究では、これまで哺乳動物では知られていなかった、ダイナミン・ファミリーのVps1サブファミリーに属する新奇のタンパク質を同定して、DVLP (Dnmolp/Vps1p-Like Protein)と命名し、その機能や生化学的性質について様々な観点から詳しく解析している。遺伝子操作によりエピトープ・タグをつけたDVLPを細胞内で発現させ、その局在を調べている。また、生化学的手法や分子生物学的手法を用いて解析することにより、DVLPは4量体を形成していることを明らかにし、さらに4量体の形成機構に関するモデルも提案している。これらの一連の研究は、いずれも世界に先駆けて行われたものであり、小胞輸送に関与するGTP結合タンパク質の構造と機能に関して重要な知見を加えていることから高く評価できる。

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認める。