

氏名(本籍)	か さい かず お 河 西 和 雄 (山 梨 県)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 2,041 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	Studies on Vesicular Transport between <i>trans</i> -Golgi Network and Plasma Membrane (トランスゴルジネットワークと細胞膜との間の小胞輸送に関する研究)		
主 査	筑波大学教授	農業博士	村 上 和 雄
副 査	筑波大学教授	農業博士	祥 雲 弘 文
副 査	筑波大学教授	農業博士	馬 場 忠
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

粗面小胞体で合成された蛋白質はゴルジ装置を経てトランスゴルジネットワーク (TGN) へ輸送され、それぞれの機能するオルガネラへと選別される。しかしながら、この TGN における選別の分子メカニズムは、今のところ不明である。それぞれのオルガネラ間のタンパク質の輸送は、輸送小胞によって行われる。これらの輸送小胞には現在、小胞体から Golgi への輸送に関わる COPII コート小胞、各 Golgi 嚢間や Golgi から ER への逆輸送に関わる COPI コート小胞、TGN-細胞膜間のクラスリンコート小胞の存在が知られる。クラスリンコート小胞はそのアダプタータンパク質の違いから AP-1, AP-2, AP-3 の存在が知られている。細胞質中に存在する small GTP-binding protein が活性を持つ GTP 結合型へと変換され、donor membrane に結合することが引き金になって細胞質中に存在していたコートタンパク質が膜へ結合すると輸送小胞が形成される。著者は、この輸送小胞を介した細胞内タンパク質輸送の中で、特に TGN と細胞膜との間に輸送について以下の研究を行った。

TGN38 は、I 型膜蛋白質で、主として TGN に局在している。その cDNA は、はじめラット肝臓より単離された。最近、TGN38 のアイソフォームである TGN41 が同じくラットにおいて同定され、TGN38 と TGN41 は、互いに heterodimer を形成すると考えられた。この TGN38 と TGN41 の機能を解明するため、その cDNA の単離を試みた。その結果、ICR マウス脳ライブラリーより、予想外にも 2 つの TGN38 の isoform (TGN38A, TGN38B と命名) を単離した。しかしながら、TGN41 に相当する cDNA は全く得られなかった。この 2 つの TGN38 の差異は、特徴的な 8 アミノ酸の繰り返し配列内の 24bp の挿入/欠失といくつかの 1 塩基置換であった。RT-PCR 法を用いた実験により TGN38B の存在は ICR マウス系統特異的であること、さらにマウスにおいては TGN41 が存在しないことを明らかにした。

TGN38 の細胞質中領域にはクラスリンコート小胞のアダプタータンパク質である AP-1, AP-2 が結合することがすでに示されており、マウスにおいて TGN38 は monomer もしくは homodimer を形成し、クラスリンコート小胞を介して TGN と細胞膜との間で機能すると考えられた。

DynaminI は、約 100kDa の高分子量 GTP 結合タンパク質で、細胞膜からの endocytosis の際のクラスリンコート小胞の形成に関与することが知られている。Dynamin family は現在、哺乳類において 3 種類が同定されているが、ほとんどの研究は DynaminI についてのものであった。著者は、DynaminII が TGN からのクラスリンコート小胞の形成を担う分子ではないかと推測し検討した。まず、DynaminII の細胞内局在を様々な細胞を用いて間接蛍光抗体法で観察した。しかしながら予想とは異なり DynaminII は TGN には局在していなかった。また、TGN

からの小胞の輸送を2つのマーカータンパク質の輸送を指標として観察したが、DynaminIIの機能を阻害してもTGNからのこれらのマーカータンパク質の輸送は阻害されなかった。このことからDynaminIIはTGNからの小胞輸送には関与しないことが明らかとなった。さらに、DynaminIで示されているendocytosisへの関与をDynaminIIにおいて調べるために、クラスリンコート小胞を介したendocytosisで細胞内に取り込まれることで知られるTransferrinを用いて細胞内へのTransferrinの取り込み実験を行った。その結果、DynaminIIの機能を阻害しても、DynaminIの機能阻害で観察されるのと同様にTransferrinの取り込みが抑えられることが示された。このことからDynaminIIはDynaminIと同様に細胞膜からのクラスリンコート小胞の形成に関与することが明らかになった。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

粗面小胞体で合成された蛋白質はゴルジ装置を経てトランスゴルジネットワーク（TGN）へ輸送され、それぞれの機能するオルガネラへと選別される。しかしながら、このTGNにおける選別の分子メカニズムは、今のところ不明である。

それぞれのオルガネラ間のタンパク質の輸送は、輸送小胞によって行われる。著者の研究により、マウスにおいてはTGN41が存在せず、TGN38はmonomerもしくはhomodimerを形成し、クラスリンコート小胞を介してTGNと細胞膜との間で機能すると考えられた。

また、細胞膜からのendocytosisの際のクラスリンコート小胞の形成に関与することが知られているDynaminに関する研究では、著者の研究により、DynaminIIはTGNからの小胞輸送には関与せず、DynaminIと同様に細胞膜からのクラスリンコート小胞の形成に関与することが明らかになった。

ここに述べた研究は、今後のトランスゴルジネットワークと細胞膜との間の小胞輸送の研究に役立つと期待される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。