

論文内容の要旨

申請者氏名 Nguyen Thi Hong Nhung

脂質膜とタンパク質の相互作用は、代謝や細胞内シグナル伝達だけでなく、細胞内小器官の形成や変形を介した様々な生命現象に不可欠である。Bin-Amphiphysin-Rvs (BAR)ドメインを有するタンパク質は、脂質膜の曲率を形成あるいは検出するタンパク質として知られてきた。Extended Fes-CIP4 homology (EFC)/FCH-BAR (F-BAR)ドメインは、BAR ドメインのサブファミリーを形成する。BAR ドメインは、脂質膜にホモ二量体として結合し、さらに、多量体を形成することが明らかになっている。また、CIP4 や PACSIN2 タンパク質の F-BAR ドメインは、クラスリン被覆小孔やカベオラなどの膜構造に局在する。一方で、Growth-Arrest-Specific-Protein-7 (GAS7) は、SH3 ドメイン、WW ドメイン、F-BAR ドメインを持つタンパク質であり、ファゴサイトーシスカップやラメリポディアなどの比較的平面的な構造に局在、多量体形成を行うことで構造形成に関与することがわかっていたが、多量体形成機構は、未解明であった。

ファゴサイトーシスでは、抗体を認識する FcγRII などの受容体の下流で、Cdc42 などの低分子量 G タンパク質や Src ファミリーチロシンキナーゼが活性化し、また、シグナルリン脂質である PIP2 などが産生される。一方で、ファゴサイトーシスカップを含む BAR ドメインの関与する構造形成には、アクチン細胞骨格が N-WASP や WASP などにより誘導されることが既知であり、さらに N-WASP は、Nck などのアダプタータンパク質により集合することがわかっていた。その際に、N-WASP には、多数の Nck の結合部位があることで、多価相互作用により、複数のタンパク質が集合した液液相分離(LLPS)状態となり、その高い濃度によってアクチン重合などを制御することがわかっていた。GAS7 は、N-WASP と結合することは知られていたが、GAS7 の分子集合に N-WASP の LLPS がどのような役割を果たしているか、明らかではなかった。また、ファゴサイトーシスは血球系細胞であるマクロファージで盛んであるが、マクロファージで多く発現している WASP の関与は明らかではなかった。さらに WASP の変異は遺伝病である Wiskott Aldrich Syndrome を引き起こすがその変異のうち多価相互作用に関与するポリプロリン領域の変異の作用機序は不明であった。

本研究では、ファゴサイトーシスカップ形成に関わる上記 N-WASP、WASP、Nck タンパク質群による GAS7 の分子集合機構を調べた。まず、GAS7 の分子集合を解析するために、N-WASP、WASP、Nck、WISH と GAS7 の間の分子結合を調べ、GAS7 と Nck や WISH および WASP との間の新規な結合を言い出した。さらに WASP の遺伝病変異によりこれらの結合が減弱することも見出した。

次に、これらのタンパク質を共存させ、多価相互作用を誘導した際に、GAS7 やこれらのタンパク質の膜局在、および膜上でのタンパク質の局所濃縮が生じるか調べた。GAS7 はこれらのタンパク質による多価相互作用によって、膜上に局所濃縮した。さらに、遺伝病の変異によって局所濃縮は失われた。膜上でのタンパク質の局所濃縮は、溶液中での LLPS に対応すると考えられる。

以上の結果は、GAS7 の分子集合に至る多価相互作用を介したシグナル伝達により再構成できることを示し、さらに、遺伝病における発症機序を示唆した。

☐ やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Nguyen Thi Hong Nhung

脂質膜とタンパク質の相互作用は、生命現象にとって不可欠である。特に、脂質膜の形状決定機構の解析は、ほとんどの生命現象が、脂質膜で形成された小器官によっていることを考えると、非常に重要である。BAR ドメインタンパク質は、脂質膜結合タンパク質である。BAR ドメインは高次集合する性質を持ち、高次集合したタンパク質表面形状によって、脂質膜の形状を制御あるいは検出すると考えられている。GAS7 の F-BAR ドメインは、ラメリポディアやファゴサイトーシスカップなどの平面状の脂質膜に結合し、平面状に集合し、かつファゴサイトーシスカップ形成に不可欠なことがわかっていた。ファゴサイトーシスカップは低分子量 G タンパク質 Cdc42 の活性化や Src キナーゼにより制御を受けることが知られているが、これらの活性が BAR ドメインの集合に変換される仕組みは明らかでなかった。したがって、本研究は、これらの構造形成を理解する上で重要である。

第一の発見は、GAS7 とファゴサイトーシスカップ形成に関わる他のタンパク質である、WASP、N-WASP、Nck、WISH、Cdc42、受容体などの相互作用を調べ、新規な相互作用を含むこれらのタンパク質間の相互作用のネットワークを明らかにしたことである。特に、WASP の遺伝病の変異のうち、タンパク質相互作用を含めて効果の不明な変異があったが、その変異が GAS7 や WISH との相互作用を失わせることを発見したことは特筆すべきである。

第二の発見は、GAS7 の脂質膜での集合の様子を顕微鏡下で観察し、集合の様子を定量して、多価相互作用によって、脂質膜上で GAS7 や WASP、N-WASP の濃縮したタンパク質ドメインが形成されることを見出したことにある。これらのドメインは、タンパク質の多価相互作用によって液相中で生じる相分離現象(液液相分離 LLPS)に相当するタンパク質の濃縮体が脂質膜上でも GAS7 の存在下で生じることを示したものであり、非常に重要であると考えられることができる。さらに、この濃縮が、遺伝病の変異によって減弱することも見出した。ここで濃縮が観察されたタンパク質はいずれもファゴサイトーシスに重要であり、共局在することはわかっていたが、これらが全体としてどのようにして機能するかについては、不明であった。したがって、このような膜上でのタンパク質の集合機構の発見は価値があると認めることができる。

以上のように、本論文は、BAR ドメインを有するタンパク質の受容体の下流における分子集合が、多価相互作用による LLPS 様のものであることを、初めて明らかにし、貪食作用に関わる脂質膜構造形成の基礎を提供するものであり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、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。

☐ やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】