HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A study on the function of the C-terminal half region of the Arf GTPase activating protein Gcs1p [an abstract of dissertation and summary of dissertation review]
Author(s)	Zendehboodi, Zahra
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11051号
Issue Date	2013-06-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53233
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Zahra_Zendehboodi_review.pdf, 「審査の要旨」

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文　審　査　の　要　旨

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　　氏　名　　Zahra Zendehboodi

審査担当者	主　査	教　授	田　中　一　馬
	副　査	教　授	山　下　正　兼
	副　査	准教授	藤　田　知　道

学　位　論　文　題　名

A study on the function of the C-terminal half region
of the Arf GTPase activating protein Gcs1p
(Arf GTPase activating protein Gcs1p のカルボキシル末端領域の機能についての研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

細胞内小胞輸送は、すべての細胞活動を支える基本的な細胞機能である。近年の研究により、細胞内小胞輸送に関与するタンパク質については多くのものが同定されており、その機能や作用機構が詳細に解析されている。一方で、細胞内小胞輸送は一方の膜から他方の膜への小胞を介した膜脂質の輸送機構であるにも関わらず、膜脂質とタンパク質の相互作用が細胞内小胞輸送の機能や制御にどのように関与しているのかについては、多くが未解明のまま残されている。本論文は、このような状況で、出芽酵母をモデル系に用いて、小胞輸送を制御する Arf small GTPase の GTPase 活性化タンパク質である Gcs1 の、C 末端領域に焦点を当てて解析し、新しい脂質結合領域を見出してその機能と生化学的性質を明らかにしたものである。

Arf GTPase はエンドソームやゴルジ体、細胞膜で輸送小胞の形成に重要な役割を果たしている。Arf は GDP に結合している時は不活性型であるが、GDP/GTP 交換因子（GEF）の働きを受けて GTP 結合型となると、エフェクタータンパク質に結合してその機能を発揮する。その後 Arf は GTPase 活性化タンパク質（GAP）の働きにより再び GDP 結合型へと戻る。Arf GAP はまた、カーゴタンパク質やエフェクタータンパク質とも相互作用して輸送小胞の形成に積極的に関与することも報告されている。以前、他のグループにより、動物細胞における Arf GAP の C 末端領域に、膜の湾曲部位を認識して結合する領域が見出されて Amphipathic Lipid Packing Sensor (ALPS) 領域と命名されていた。動物細胞の Arf GAP には２カ所の ALPS 領域の存在が示されていたが、そのホモログである酵母の Gcs1 では、一カ所のみの存在が報告されていた。

そこで著者はまず、Gcs1 のアミノ酸配列を解析し、これまでに報告されている ALPS 領域の下流に、ヘリックス形成により両親媒性を示す領域、すなわち膜脂質に結合する可能性のある領域を見出して、AH (amphipathic helix)領域と命名した。まず ALPS 領域と AH 領域の細胞内での機能を明らかにするために、ALPS および AH 領域に変異を導入し、これら Gcs1 変異体を酵母細胞で発現して小胞輸送への影響を調べた。その結果、Gcs1 が関与する小胞輸送経路のうち、ゴルジ体より小胞体へと至る逆行輸送経路では、ALPS 領域が単独で機能できること、

これに対して、初期エンドソームから後期ゴルジ体への小胞輸送経路では、ALPS領域に加えてAH領域も機能できることを明らかにした。また、初期エンドソームから後期ゴルジ体への小胞輸送経路では、脂質輸送体であるDrs2フリッパーゼも重要な機能を果たしており、これがGcs1と機能的相互作用を示すことが既に明らかにされているが、ALPS領域とAH領域は、Gcs1のこの機能においても重要な働きをしていることを明らかにした。ALPS領域の生理機能は動物細胞のArf GAPでも十分に解析されておらず、本研究成果はこの点からも高く評価される。

また著者は、このAH領域が脂質へ結合する可能性について、人工リポソームを用いて解析を行い、AH領域単独でもリポソームへ結合できることを明らかにした。この結合は、より小さな径のリポソームで特異的に観察されたことから、AH領域はALPS領域と同様、膜の湾曲度合いを認識して結合することが示された。更に著者は、ALPS領域が、小胞輸送に重要な役割を果たすSNAREタンパク質とも相互作用することを見出した。これらの結果から、著者は、Gcs1 Arf GAPがそのC末端領域でSNAREおよび膜脂質と相互作用し、この2面的な相互作用を介して、輸送小胞の形成を制御している可能性を示唆した。

これを要するに、著者は、Arf GAPであるGcs1に新規の膜脂質結合ドメインを見出し、これが、初期エンドソームからの小胞形成過程におけるGcs1の働きに重要な機能を果たしているとの新知見を得たものであり、細胞内小胞輸送の研究領域に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。