



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A study on the function of the phospholipid flippase Drs2 in the endocytic-recycling pathway [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	花松, 久寿
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11409号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55772
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hisatoshi_Hanamatsu_review.pdf, 審査の要旨



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 花 松 久 寿

	主 査	教 授	田 中 一 馬
審査担当者	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 phospholipid flippase Drs2 in the endocytic-recycling pathway

（膜リン脂質輸送体 Drs2 のエンドサイトーシス-リサイクリング経路における機能に関する研究）

博士学位論文審査等の結果について（報告）

生体膜の主要な構成因子であるリン脂質が、脂質二重層の内層と外層で非対称的に分布していることが知られており、膜リン脂質非対称性と呼ばれている。脂質非対称性の形成及び維持に関わる因子として、非細胞質側から細胞質側へとリン脂質を輸送する Type 4 P-type ATPase (P4-ATPase, フリッペースとも呼ばれる) の機能が注目されている。モデル生物である出芽酵母では Drs2 フリッペースが非触媒サブユニットである Cdc50 と複合体を形成し、細胞内小胞輸送経路の一つであるエンドサイトーシス-リサイクリング経路において、初期エンドソームからの輸送小胞の形成に関与していることが示唆されているが、その機構は不明である。

本論文は、先行研究で Cdc50-Drs2 と相互作用することが報告されていた Rcy1 タンパク質について、その結合の生理的意義について解析したものである。初めに Cdc50-Drs2 複合体のどの領域が相互作用に重要であるか検討したところ、Drs2 の C 末端領域が Rcy1 との相互作用に重要であることが明らかとなった。また、*in vitro* における pull down assay により Drs2-C 末端領域と Rcy1 は直接相互作用していることを明らかにした。次に Rcy1 と相互作用できない Drs2 変異体のスクリーニングを行い、Drs2 の 1260 番目イソロイシンと 1264 番目アルギニンの変異を同定した。また、これらアミノ酸の近傍に新たに導入した変異体の解析から、1261 番目及び 1268 番目のアルギニンも相互作用に重要なアミノ酸であることを見出した。これら Drs2 単独変異体 (I1260T、R1261A、R1264G、R1268A) ではリサイクリング経路における異常が微弱であったので、2つを組み合わせた Drs2 二重変異体を作成したところ、I1260T/R1264G 及び R1264G/R1268A 変異体は Drs2 欠損株と同程度のリサイクリング異常を示した。さらに Drs2 変異体では Rcy1 が初期エンドソーム膜へ局在していなかったことから、Drs2 と Rcy1 の相互作用は Rcy1 の局在にも重要であることが明らかとなった。

以上の結果から、著者は、Cdc50-Drs2 フリッペースがエンドソームから輸送小胞を形成する際には Rcy1 との相互作用が重要であると結論した。フリッペースは酵母からヒトまで保存されており、輸送小胞形成はフリッペースの重要な細胞機能であると考えられる。Rcy1 は F-box を有するタンパク質であるが、その小胞形成との関連は不明である。本研究は、Rcy1 がフリッペースによる小胞形成機構の鍵を握るタンパク質であることを明らかにした研究として、高く評価される。

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。