HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ras-PI3Kシグナルの時空間制御を介したエンドサイトーシス制御機構に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	佐藤, 絢
Description	配架番号：2457
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13443号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74347
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Aya_Sato_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

（様式 16）

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　佐藤　絢

	主査	教授	野口昌幸
審査担当者	副査	教授	村上正晃
	副査	教授	渡邉雅彦
	副査	教授	本間明宏

学 位 論 文 題 名

「Ras-PI3K シグナルの時空間制御を介したエンドサイトーシスの制御機構に関する研究」
(Studies on the regulatory mechanism of endocytosis by spatiotemporal control of Ras-PI3K signaling)

佐藤絢さんの上記の研究に対する学位審査の内容は以下のようであり報告いたします。

研究は第 1 章は PI3K の subunit の一つである p110 g の N 端に存在する特異配列を同定、そのアミノ酸配列 RAPEL に注目した多彩な分子イメージング手法を用いたエンドサイトーシス、ウイルス感染に関する解析とその生物効果の解析です。第 2 章では RAPEL を用いた yeast two hybrid 法による探索を行い、RAPEL に結合性するミトコンドリア因子 VDAC2 の同定を同定しました。この VDAC2 に関しましてエンドゾームとミトコンドリアの相互採用を介したリソゾームの成熟と酸性化などの細胞生物機能の多くの分子イメージング手法を主体とした生物機能の解析を行ったのものであります。

これらの多彩な研究と論文に対しての質疑において、副査の村上正晃教授から「RAPEL の存在を PI3K の family で調べるように、VDAC1~3 に関するエンドサイトーシスへの機能はどうであったかなどを discussion に入れてはどうか」という助言がありました。渡辺雅彦教授から GTP-GDP の変換とエンドサイトーシスの関係はどうか？（GTP-GDP 変換そのものも重要ではあるが、より他の因子の関与が推測される）。インフルエンザ感染に対して使うにあたり他の細胞機能を落とさないのか？（RAPEL はクラスリリン非依存性のエンドサイトーシスのみ影響するので大きな副作用は少ないのではないかとも考えられる）。RAS-PI3K のクラスリン非依存性の取り込みを制御する因子は他にどのようなものがあるのか？（EGF 受容体、インフルエンザなどあるが cargo としては特定の因子は同定されていない）、RAPEL の結合に重要な KK はどのような機序で小胞への結合を促進するのか（いまだ同定されていない因子 X が介在している可能性もある）、VDAC2 が ATP や anion など voltage 依存的に膜移行をどのように制御しているか？（先行研究から、その VDAC2 による膜移行に関する分子の選択性は低い可能性もある）、VDAC2 の siRNA では小胞のへの効果が少ない理由は？（VDAC2 はエンドゾームの成熟の方にその働きの

主体がある、他の因子の関与も否定できない)。本間明宏教授から RAPEL を欠損させた場合の効果はどうであったか？（発表の中で示したデータなどに基づいてエンドゾームへの集積を阻害する可能性がある)、ミトコンドリアとエンドゾームの相互関係というのは具体的にはどのような細胞現象を想定しているのか？（ミトコンドリアとエンドゾームが physical に近接し、具体的にはこれら二つの細胞内構造の膜上のタンパクが近接し、結合すること)、野口昌幸より p85 の subunit の関係はどうか？（p85 自体を染色などはしていないが、たの PI3K も RAPEL 配列に似た配列を持っており、他の 110PI3K も集合する可能性がある)、RAPEL の構造は特定の構造を持つものなのか？（今のところ構造解析は検討しておらず、今後の検討課題)、VDAC2 と全長の PI3K g の結合は検討してあるか？（現在検証中である)、VDAC2 はインフルエンザなどウイルスに対する効果があるのか？（実験を試みたが、インフルエンザに関してはあまり直接的な効果がない印象)、インフルエンザに注目した理由は？（研究室での先行研究で細胞内カルシウムによるインフルエンザ感染制御への効果が得られていたこと)、オートファジーとの関連は？（EEA1 陽性などの結果から、リソゾーム系よりさらに初期のエンドゾームの成熟過程に関与している可能性がある)。などの質問や助言があり、先行研究、自身の研究成果に基づいてほぼ適切に回答しました。学位論文の体裁そして発表とも大変わかりやすくまとめられており、審査員からの抗ウイルス薬などの創薬も含めて今後の生物学的な疑問点の解明を含めてさらなる研究の発展の期待できるなど高い評価でありました。審査員からの助言や基礎論文目録の記載に関して一部修正の必要はありますが、学位論文、登校中の基礎論文ともにしっかりとまとめられており、審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を授与されるのに充分な資格を有すると判定いたしました。