

氏 名 (本籍)	た 田 なべ けん じ 司
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1 8 3 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科 (博 士 課 程) 医 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	A novel GTPase-activating protein for Arf6 directly interacts with clathrin heavy chain : its possible role in the regulation of clathrin- dependent endocytosis (クラスリンに結合するArf6特異的な新規GTPase 活性化タンパク質：クラスリン依存性エンドサイ トーシスの調節)
	(主 査)
論 文 審 査 委 員	教 授 佐 竹 正 延 教 授 田 村 眞 理 教 授 高 井 俊 行

論文内容要旨

低分子量 GTPase である ADP リボシル化因子 (ADP-ribosylation factor : Arf) は細胞内小胞輸送および細胞骨格を制御することが知られている。Arf1 はゴルジ装置やエンドソームにおいて、小胞の形成に必要な被覆タンパク質を膜へ会合させると同時に、積荷タンパク質の選別も行うと考えられている。一方、Arf6 は細胞膜とエンドソーム間の輸送、および細胞骨格の調節をしていると考えられているが、Arf6 の膜輸送における調節機構は未だ明らかになっていない。GTPase 活性化タンパク質 (GAPase-activating protein) は GTPase の加水分解活性を高め、結果として GTPase を GDP に結合した不活性な状態にする重要な調節因子である。今回、我々は新規の GAP として SMAP1 を同定し、この遺伝子が *in vitro* で Arf6 に特異性を有することを見出した。SMAP1 の細胞内での過剰発現は Arf1 に対する GAP と異なり、COPI, AP-1 や AP-3 などの Arf1 によって調節されている被覆タンパク質には影響せず、Arf6 に調節されていると考えられるクラスリン依存性のエンドサイトーシスが阻害された。一方、Arf6 によって制御される細胞骨格の再編成には影響がないことから、SMAP1 の過剰発現はクラスリン依存性エンドサイトーシスのみに影響を及ぼすことが考えられた。この効果は SMAP1 の GAP 活性を無くした変異体を発現させた際にも認められ、エンドサイトーシスの阻害が Arf6 の活性調節を介さないことが示唆された。更に、SMAP1 の過剰発現によってクラスリンの局在が変化しており、更に SMAP1 のアミノ酸配列にクラスリンとの相互作用に必要と考えられるクラスリンボックスに類似した配列が存在することを見出した。免疫沈降法により SMAP1 とクラスリンの結合が認められ、この結合はクラスリンボックス類似の配列に依存していることが確かめられた。これらの結果は Arf1, GAP1 と COPI の三者がゴルジ装置における小胞形成を調節していることと同様に、細胞膜においても Arf6, SMAP1 とクラスリンが小胞形成を調節している可能性を示唆するものである。

審査結果の要旨

低分子量 GTPase である ADP リボシル化因子 (ADP-ribosylation factor : Arf) は細胞内小胞輸送および細胞骨格を制御することが知られている。Arf1 はゴルジ装置やエンドソームにおいて、小胞の形成に必要な被覆タンパク質を膜へ会合させると同時に、積荷タンパク質の選別も行うと考えられている。一方、Arf6 は細胞膜とエンドソーム間の輸送、および細胞骨格の調節をしていると考えられているが、Arf6 の膜輸送における調節機構は未だ明らかになっていない。GTPase 活性化タンパク質 (GAPase-activating protein) は GTPase の加水分解活性を高め、結果として GTPase を GDP に結合した不活性な状態にする重要な調節因子である。今回、申請者は新規 GAP として SMAP1 を同定し、SMAP1 が *in vitro* で Arf6 に特異性を有することを見出した。SMAP1 の細胞内での過剰発現は Arf1 に対する GAP と異なり、COPI, AP-1 や AP-3 などの Arf1 によって調節されている被覆タンパク質の局在には影響せず、Arf6 に調節されていると考えられるクラスリン依存性のエンドサイトーシスを阻害した。阻害効果は SMAP1 の GAP 活性を無くした変異体を発現させた際にも認められ、エンドサイトーシスの阻害が Arf6 の活性調節を介さないことが示唆された。更に、SMAP1 の過剰発現によってクラスリンの局在が変化することを観察したが、実際、免疫沈降法により SMAP1 とクラスリンが結合することを示した。以上の結果は Arf1, GAP1 と COPI の三者がゴルジ装置における小胞形成を調節していることと同様に、細胞膜においても Arf6, SMAP1 とクラスリンが小胞形成を調節している可能性を示した初めての報告であり、学位に十分、値すると判断する。