

Title	Molecular and functional characterization of a unique Rab protein, RABRP1, containing the WDIAGQE sequence in a GTPase motif
Author(s)	藤川, 和代
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44065
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	藤 川 和 代
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 17238 号
学位授与年月日	平成14年6月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Molecular and functional characterization of a unique Rab protein, RABRP1, containing the WDIAGQE sequence in a GTPase motif (GTP加水分解モチーフにWDIAGQE配列を持つユニークなRab蛋白質、RABRP1、の分子および機能特性)
論文審査委員	(主査) 教授 河村 悟 (副査) 教授 小倉 明彦 教授 金澤 浩 助教授 尾崎 浩一

論文内容の要旨

細胞内での厳密に制御された選別輸送過程には、Rab蛋白質ファミリーという一群の低分子量GTP結合蛋白質が関与することが知られている。ショウジョウバエから得られたRab蛋白質をコードするcDNAクローンのうち、RABRP1 (Rab-related protein 1) はGTP加水分解モチーフ内(WDIAGQE)にスレオニンからイソロイシンへのアミノ酸置換が起こっており、これは他のRab蛋白質には見られないユニークな特徴であった。そこで申請者はRABRP1に注目し、その分布と機能について調べた。cDNAから推定されるアミノ酸配列は、そのC末端の3分の1がRab蛋白質と相同性を有していた。分子系統樹による解析から、RABRP1は細胞性粘菌RabEおよび哺乳類Rab29、Rab32、Rab38とサブグループを形成することがわかった。これら一群のRab蛋白質は、全て、上記の特徴的なアミノ酸置換を有していた。RabRP1 mRNAと蛋白質(RABRP1)の組織分布を調べた。その結果、RabRP1 mRNAは主に眼と精巣で発現していた。Rabドメインに対して作製した抗体は、主に眼と精巣でペプチドを認識した。免疫組織化学法によってRABRP1の細胞内局在を調べたところ、RABRP1は網膜において、視細胞のsubrhabdomeric cisternae (SRC) および、視細胞と色素細胞の色素顆粒に局在した。色素細胞は、ショウジョウバエでは主に眼と精巣に存在しており、色素顆粒の形成過程はエンドソーム・リソソーム系の輸送過程と共通していると考えられている。さらに、RABRP1の機能を調べるため2種の形質転換体を作成した。まず、GTP結合モチーフに点変異を導入した変異蛋白質RABRP1N601Iを発現させることによりnative RABRP1の機能を阻害するdominant negative mutantを作成した。その網膜を電子顕微鏡で観察した結果、視細胞光受容膜の基部周辺に細胞の内容物を含むオートファゴソーム様の膜構造体が蓄積していた。多数の電子密度の高い多胞体や大型の顆粒もこの領域に観察され、これらはリソソーム関連の小器官であると考えられた。さらに、この変異体の視細胞では、色素顆粒の異常な蓄積が観察された。オートファゴソームはその分解過程でリソソームと融合することが知られており、これらの結果は、RABRP1N601Iがエンドソームおよびオートファゴソーム様構造だけでなく色素顆粒のリソソーム過程による分解を阻害していることを示している。また、もう一つの変異体ではアンチセンスRabRP1 RNAを発現させることによりnative RABRP1の発現を抑制し、その網膜の形態を電子顕微鏡により観察した。その結果、この変異体では視細胞や色素細胞の縮退、変性が観察され、リソソーム過程の変異による細胞障害ではないかと考えられた。これらの結果から、RABRP1はエ

ンドソームやオートファゴソーム、色素顆粒のリソソーム経路による分解過程の制御に関与している Rab 蛋白質であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

ショウジョウバエの新規 Rab 蛋白質、RABRP1 は、WDIAGQE という特徴的な配列を持っており、その遺伝子と蛋白質は主に眼と精巢に分布していた。細胞内において、RABRP1 は色素顆粒に局在していた。RABRP1 の **dominant negative mutant** の視細胞では、オートファゴソーム様の膜構造体と色素顆粒が異常に蓄積していた。これらの結果から、RABRP1 は色素顆粒の代謝を含むリソソーム経路の小胞輸送過程に関与する事が示唆された。本研究は、RABRP1 ファミリー蛋白質の機能を明らかにした初めての研究であり、博士（理学）の学位論文として、充分価値あるものと認める。