

Title	A Novel Dynamin-associating Molecule, Formin-binding Protein 17, Induces Tubular Membrane Invaginations and Participates in Endocytosis
Author(s)	上岡, 裕治
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47522
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 かみ 上 おか 岡 ゆう 裕 し 治

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20926 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 19 年 3 月 23 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体制御医学専攻

学 位 論 文 名 A Novel Dynamin-associating Molecule, Formin-binding Protein 17, Induces Tubular Membrane Invaginations and Participates in Endocytosis
(新規 Dynamin 結合因子の FBP17 は管状の細胞膜陥入を起こし、エンドサイトーシスに關与する)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 望 月 直 樹

(副査)

教 授 高 倉 伸 幸 教 授 松 浦 善 治

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

血管内皮細胞の細胞間接着分子 PECAM-1 をリン酸化するキナーゼタンパク質 : Fer にはキナーゼドメイン以外に FCH (Fer/CIP4 Homology) ドメインと呼ばれる領域が存在する。Fer 以外に FCH ドメインを持つタンパク質は数多く発見されているものの、その機能についての研究は進んでいなかった。そこで我々は FCH ドメインを持つタンパク質の一つである FBP17 (Formin-binding Protein 17) に焦点を当てて、FCH ドメインの役割と FBP17 の機能について解析を行った。

[方法ならびに成績]

FBP17 の細胞内局在を調べるために、FBP17 に蛍光タンパク質 (GFP) を結合させた融合タンパク質を細胞内で発現させると、FBP17 は管状の構造体を形成した。蛍光顕微鏡下でのライブイメージングにより、この管状構造は細胞の外から内側へ陥入するというダイナミックな挙動を示した。電子顕微鏡観察においてもこの管状構造を確認した。既に FCH ドメインが微小管結合ドメインであるという報告があったことから、この管状構造と Tubulin との細胞内局在を免疫染色法で比較したが、FBP17 と Tubulin は局在を一致させなかった。さらに、GFP-FBP17 発現細胞を、細胞膜を染色する蛍光色素 DiI で染色した結果、FBP17 由来の管状構造と DiI の染色像は一致した。以上のことから FBP17 は細胞膜の陥入によって管状構造を誘導することがわかった。

この管状構造形成メカニズムを明らかにするために、幾つかの欠失変異体を作製し、管状構造の形成を顕微鏡下で観察した。その結果、FCH ドメインを含むアミノ末端側の領域が管状構造の形成に必要であった。またこのアミノ末端側の領域で多量体を形成することが免疫沈降法による共沈実験で判明した。

FBP17 の管状構造は細胞膜の陥入によって形成されるという知見に加えて、他の FCH ドメインを有するタンパク質が endocytosis に關係するという報告があったことから、次に我々は FBP17 が endocytosis に關与する可能性を調べた。免疫沈降法、免疫染色法の結果、FBP17 はカルボキシル末端に存在する SH3 ドメインを介して Dynamin と

結合することが明らかとなった。さらに FBP17 の形成する管状構造には Dynamin 依存的に endocytosis で細胞内に取り込まれた分子（トランスフェリン、EGF、コレラトキシン B サブユニット）が共に局在していた。以上のことは FBP17 が Dynamin との結合を介して endocytosis に関わる分子であることを強く示唆していた。

Dynamin は GTP 加水分解反応によって細胞内へ陥入した細胞膜の切断を司る重要な分子であることから、次に我々は Dynamin が FBP17 の管状構造を切断する可能性について検討した。Dynamin の GTP 加水分解不活性変異体（Dynamin-K44A）と FBP17 を共に細胞内に発現させると、FBP17 の形成する管状構造の細胞内存在量（EGFP-FBP17 の蛍光強度）が増えた。これは Dynamin 依存的な FBP17 の管状構造の切断が Dynamin-K44A によって阻害されたことを示唆していた。よってこの管状構造の形成には FBP17 の多量体形成と Dynamin による切断のバランスが重要であることが考えられた。

[総括]

FBP17 において、FCH ドメインは細胞膜陥入を起こす管状構造形成に重要なドメインであった。

FBP17 は Dynamin と結合することで endocytosis を制御する可能性がある新規因子であった。

論文審査の結果の要旨

申請者の研究により、これまで機能が不明であった FCH (Fer/CIP4 Homology) ドメインが細胞膜脂質を変形させ、管状の構造を形成する働きがあること、またその FCH ドメインを有するタンパク質：FBP17 (Formin-binding Protein 17) が Dynamin との結合を介してエンドサイトーシスを制御する可能性があることを発見した。

エンドサイトーシスの研究の歴史は長く、これまでも細胞膜に結合する、または細胞膜を切断することでエンドサイトーシスに関与する分子はいくつか報告されている。しかし、「細胞膜を変形させる」という分子の報告は少なかった。申請者の研究が他の細胞膜変形活性を持つ分子の研究報告にたびたび引用されていることから本研究の先駆性、独創性が高く評価でき、学位の授与に値すると考えられる。