

## 【学位論文審査の要旨】

### 1 研究の目的

細胞は小胞体、ゴルジ体、エンドソームなどの多様なオルガネラで構成されている。オルガネラは膜小胞を利用した輸送ネットワークシステム「メンブレントラフィック」を構築することで、互いに情報、物質を輸送し、その恒常性を維持している。

Rab ファミリータンパク質は、メンブレントラフィックを制御する単量体 GTPase であり、GTP 結合型と GDP 結合型をサイクルすることにより、その立体構造や機能が変化する。GTP と結合した Rab タンパク質は活性型となり、膜小胞にアンカーされてその輸送を促進する。一方、GDP と結合した Rab タンパク質は不活性型となり、膜小胞から離れて細胞質に局在する。近年、Rab タンパク質の立体構造解析が進展し、GDP 型 Rab タンパク質は疎水性領域 (Switch I) を露出することが明らかにされた。細胞質における疎水性領域の露出は、タンパク質同士の凝集を引き起こす可能性がある。凝集性の高い GDP 型 Rab タンパク質の蓄積を防ぐため、全く新しい「細胞質性」膜タンパク質品質管理機構が存在することが予見されたが、その実体は明らかではなかった。本論文では、GDP 型 Rab タンパク質の品質管理を支配する新機構を解明することを目的に研究を行った。

### 2 研究の方法と結果

本論文では、タンパク質の疎水性領域を認識する新しいシャペロンとして BAG6 を同定し、その機能は細胞内の膜タンパク質輸送に関与することを見出した。まず、BAG6 が GDP 型 Rab の疎水認識シャペロンとして機能する可能性を検討するため、Rab タンパク質との結合実験を行った。その結果、BAG6 が Rab8a と結合しうること、その結合量は GDP 結合時に増大すること、BAG6 の疎水基認識ドメインを欠損すると結合が失われることを見出した。次に、Rab8a の Switch I 領域が BAG6 による認識に関係する可能性を明らかにするために、Switch I 領域の疎水性残基を親水基に置換した GDP 型 Rab8a 変異体と BAG6 との結合実験を行った。その結果、Switch I の疎水性度を低下させた変異体では BAG6 との結合が失われた。以上の結果から、GDP 結合時に露出する Switch I を介して BAG6 が Rab8a を認識することが示された。

BAG6 は標的基質のユビキチン化と分解を誘導することが知られている。そこで本論文では、GDP 型 Rab8a の半減期、ならびにユビキチン修飾を検証した。その結果、GDP 型 Rab8a がユビキチン化修飾を受け、急速に分解されることを初めて示した。さらに、BAG6 ノックダウン条件下で GDP 型 Rab8a のユビキチン化と分解が阻害されることを見出した。これらの結果は、BAG6 が、GDP 型 Rab8a 特異的なプロテアソーム依存的分解を制御することを示している。最後に、BAG6 による Rab タンパク質分解がメンブレントラフィックに与える影響を検討するため、Rab8a の基質として知られるトランスフェリンレセプター (Tfn-R) の局在に対する BAG6 ノックダウン効果を調べた。その結果、BAG6 ノックダウン

によって Tfn-R のエンドソーム局在が変化することを見出した。BAG6 は、Rab8a を含む複数の Rab ファミリータンパク質と結合しうることから、本論文では、GDP 型 Rab タンパク質の安定性を広く制御し、それぞれの Rab 依存的なメンブレントラフィックに影響しうるということが初めて明確に示された。

### 3. 論文としての完成度

本論文の研究成果は、それぞれの項目にて適切に説明されている。論文の結果は、(1) BAG6 がエンドソーム局在膜タンパク質の細胞内分布に影響しうること (第一章)、(2) BAG6 は GDP 型 Rab タンパク質を識別し、これをプロテアソーム依存的分解系に導くこと (第二章)、の 2 つの章に分けて、多方面の実験結果からまとめられている。関連の深い先行研究を網羅して引用し、それらとの関係で、本論文の新規性や意義を明確に論じている。今後の研究への展望も、適切に述べられている。英文も明解であり、博士学位論文としての完成度は高い。

### 4 審査の結果

本論文は、BAG6 が GDP 型 Rab タンパク質の安定性を広く制御し、それぞれの Rab 依存的なメンブレントラフィックに影響しうるという仮説を、初めて実験的に検証した。また、このシステムが疾患防御にも関わりうることを実験的に示した。これらの発見は、BAG6 が持つ生理的/病理的意義を提案する上において大きな意味を持つ。本論文の内容は、すでに英文学術雑誌 (EMBO Reports 誌, FEBS Journal 誌) に審査のうえ筆頭著者として受理されており、残りの部分も、今後公表されるに十分値する内容を含んでいる。よって、本論文は博士 (理学) の学位に十分値すると判定した。

### 5 最終試験の結果

本学の学位規則および生命科学専攻内の申し合わせに従って最終試験を行った。公開の席上で論文内容を発表し、生命科学専攻教員による質疑応答をもって論文内容および関連分野についての最終試験とし、合格と判定した。