

論文審査の結果の要旨

氏名 桜井 一

本論文はシロイヌナズナにおける **Rab5** エフェクターの研究についてまとめられたものであり、3章からなる。

第1章は序論であり、真核細胞の膜交通制御機構についてのこれまでの知見を、エンドソームと **Rab GTPase** に焦点をあてて摘記している。また、動物細胞と植物細胞のポストゴルジ膜交通を比較し、類似点からイノシトールリン脂質と **Rab GTPase** の関連性を、相違点からは植物細胞における **Rab5** 下流因子の探索の重要性を概説している。

第2章は7節からなり、本研究の成果について述べられている。**Rab5** は主にエンドソーム膜上で分子スイッチとして機能し、活性型の時のみ相互作用するエフェクター分子を介して多彩な現象の上流因子として機能することが動物での先行研究により明らかになっている。植物は動物 **Rab5** と非常によく似た構造を持つ **Rab5** (保存型 **Rab5**) を共通して持つものの、動物で報告のあるエフェクター分子の機能が保存されておらず、植物の保存型 **Rab5** がどのような分子を介して独自の機能発現を達成しているのかはほとんど明らかになっていなかった。

第1節及び第2節では、酵母ツーハイブリット法によるスクリーニングで得られた候補に **Endosomal Rab Effector with PX-domain (EREX)** と命名し、保存型 **Rab5** との活性化状態依存的な相互作用を検証している。続く第3節では、シロイヌナズナ根由来の培養細胞 **deep** 株を用いて、**EREX** の細胞内局在を観察している。保存型 **Rab5** が活性化し、細胞質中からエンドソーム上へと局在変化することで、**EREX** の細胞内局在性も同期して細胞質中からエンドソーム上へと変化するという示唆を得ている。第4節から第7節では、**T-DNA** 挿入変異体植物及び蛍光タグ融合タンパク質を形質転換した植物を用いて、*in vivo* における **EREX** の機能解析を行っている。前節までの結果と一致して、遺伝学的解析の結果からも **EREX** が保存型 **Rab5** の下流で機能する分子であることが示唆されている。また、**Rab5** 活性が低下した変異体植物では **GFP-EREX** の細胞内局在性がエンドソーム上から細胞質中へと拡散しており、保存型 **Rab5** 活性による **EREX** の細胞内局在性の変化についても同様に一致して示されている。さらに、第5節において **EREX** のエンドソーム局在には保存型 **Rab5** の活性化だけでなく、エンドソーム膜上のイノシトールリン脂質との脂質結合も重要であることが明らかになった。**EREX** が脂質結合ドメインである **PX domain** を介して、エンドソームに多く存在するホスファチジルイノシトール-3-リン酸

(PtdIns(3)P) と特異的に脂質結合することを示している。第 7 節では、第 4 節から第 6 節での解析結果を踏まえ、種子成熟過程における種子貯蔵タンパク質の貯蔵型液胞への輸送に焦点をあて、EREX の生理機能を解析している。保存型 Rab5 のエフェクター分子である EREX が、実際に、膜交通の正確な実行に寄与していることを生理条件下で証明している。また、植物独自の保存型 Rab5 エフェクター分子の機能として、植物特有の種子成熟過程の膜交通制御が特定された点は非常に興味深い。

本章の一連の研究成果により、シロイヌナズナにおける初の保存型 Rab5 特異的エフェクターの同定に成功すると共に、機能未知であった EREX が種子成熟の過程において保存型 Rab5 の下流で、貯蔵型液胞への輸送制御に機能していることを明らかにしており、非常に著名な発見であると言える。また、発現時期・部位特異性が高く、さらに、タンパク質間相互作用と脂質結合の 2 つが協調して細胞内局在性を制御するという、エフェクター分子の時空間的制御モデルは、多彩なエフェクター分子の厳密な使い分けの仕組みを提案している点で、非常に斬新である。

第 3 章は 4 節からなる総合討論であり、第 1 節から第 3 節において細胞内膜交通研究における本研究の位置づけ及び今後の展望について議論し、続く第 4 節において本研究を総括している。

なお、本論文第 2 章は、井上丈司博士、中野明彦教授、上田貴志教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を進めたもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。