

# 論文審査の結果の要旨

氏名 竹之内 修

本論文は、植物由来の光受容タンパク質を用いて、細胞膜受容体と  $\beta$ -arrestin の相互作用を可逆的に操作する技術の開発と、その技術を応用した細胞膜受容体の細胞内輸送メカニズムに関する論文である。

本論文は全4章からなる。第1章では、細胞膜受容体およびGタンパク質共役型受容体(GPCR)のシグナル伝達の重要性、および細胞内シグナルの制御メカニズムについて説明している。GPCRは、ヒトのゲノム上に800種類以上コードされるタンパク質であり、多くの創薬研究においてGPCRが標的タンパク質とされている。リガンドによる刺激後のGPCRの細胞内輸送は、下流シグナルの強さや持続時間を左右する重要なシステムと考えられているが、どのように制御されているのかは未解明である。既存の知見を基にGPCRと $\beta$ -arrestinとの相互作用の重要性が類推されることを述べ、GPCRと $\beta$ -arrestinの相互作用の人為的な制御によって、細胞内輸送のメカニズムを解明できる可能性を指摘している。既存の手法(GPCRや関連タンパク質へのアミノ酸変異導入や、ケミカルライザーによる人為的な相互作用の誘導)の問題点を説明した上で、本研究の目的が、光受容タンパク質を利用したGPCRと $\beta$ -arrestinの相互作用を可逆的に制御可能な技術開発であることを説明している。

第2章では、外部光を用いてGPCRの一種であるアドレナリン受容体(ADRB2)と $\beta$ -arrestinの相互作用を制御する原理、ならびにその実験検証について説明している。ADRB2と $\beta$ -arrestinのそれぞれに、光受容タンパク質であるCRYとその相互作用タンパク質であるCIBが結合したプローブを作製した。プローブを発現した細胞に青色光を照射すると、ADRB2と $\beta$ -arrestinの相互作用が起こり、ADRB2のエンドサイトーシスが誘導されることを実証している。さらに、光の照射強度や照射時間を調整することで、誘導されるエンドサイトーシスの量が制御できることを証明している。さらに光照射を止めることで、ADRB2と $\beta$ -arrestinの相互作用が解消されることを明らかにした。以上の結果から、ADRB2と $\beta$ -arrestinの相互作用を可逆的に制御する光制御技術が開発できたことを結論付けている。本手法は、リガンドを使わずにADRB2の細胞内輸送を外部光で可逆的に制御できることから、生体内におけるADRB2の重要性を解析する新たな手法として大きな波及効果が期待される。

第3章では、第2章で開発したツールを用いて、ADRB2の細胞内輸送の制御メカニズムを解析した結果について述べている。光照射によってエンドサイトーシスを誘導した後、光照射を止め $\beta$ -arrestinとの相互作用を解消させると、細胞膜上にADRB2がリサイクリングされることを見出している。一方、光照射を長時間続けた場合、ADRB2のユビキチン化が促進され、リソソーム輸送が誘導されることを明らかにして

いる。これらの結果から、ADRB2 と  $\beta$ -arrestin の相互作用の持続時間が ADRB2 の細胞内輸送を決定することが示唆された。さらに、ADRB2 以外の GPCR4 種と GPCR ではない細胞膜受容体 1 種それぞれに CRY と CIB を結合し、細胞に発現させ青色光を照射した結果、全ての受容体においてエンドサイトーシスが誘導されることを実証している。これら一連の結果は、開発した光操作ツールが  $\beta$ -arrestin と相互作用する膜レセプターに対して幅広い応用性があることを示している。以上より、本手法が多様な細胞膜受容体の細胞内輸送メカニズムを解明する画期的な手法であり、その汎用性が今後期待される成果である。

第 4 章は、本研究で明らかとなった細胞内輸送のメカニズムと既存の知見との比較や、将来的にどのような研究へと応用されていくかが詳細に記載されている。本論文において、細胞膜受容体に関する様々な研究に波及効果を及ぼす光制御技術を開発し、生物学的に新たな知見を獲得している点で学術的に意義深い研究成果である。

なお本論文は、吉村 英哲氏との共同研究の成果をまとめたものであるが、論文提出者が主体的に実験やデータ解析を行った。論文提出者の寄与が十分であると判断した。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。