

審査の結果の要旨

氏名 藤本哲太

本研究はパーキンソン病病因遺伝子産物である LRRK2 による Rab7L1 リン酸化の詳細を生化学的に解析するとともに、その機能的意義を解明することを目的として検討を行い、下記の結果を得ている。

1. 精製組換えタンパク質を用いた *in vitro* の検討から、LRRK2 が Rab7L1 を直接リン酸化することが示された。また、細胞内においても LRRK2 キナーゼ活性依存的に Rab7L1 がリン酸化されたことから、Rab7L1 は細胞内における LRRK2 の基質であることが示唆された。
2. 野生型と異なりゴルジ体への局在がみられない T21N、Q67L 変異型 Rab7L1 は LRRK2 によるリン酸化を受けないことから、Rab7L1 はゴルジ体において LRRK2 によるリン酸化を受ける可能性が示唆された。
3. LRRK2 による Rab7L1 リン酸化部位を同定するため、Rab7L1 配列内の各セリン・スレオニン残基をアラニンに置換した Rab7L1 変異体を用いて Phos-tag SDS-PAGE による解析を行ったところ、S72A 変異型 Rab7L1 において LRRK2 キナーゼ活性依存的なリン酸化の消失が認められた。また、リン酸化 Ser72 Rab7L1 特異抗体を作出して検討したところ、LRRK2 キナーゼ活性依存的な Rab7L1 リン酸化の増加が認められた。従って、LRRK2 による Rab7L1 のリン酸化部位は 72 番目のセリン残基であると考えられた。
4. FPD 変異型 LRRK2 による Rab7L1 リン酸化について解析を行い、使用した 6 つの FPD 変異型 LRRK2 において共通して細胞内での pSer72 Rab7L1 リン酸化が増加することを見出した。
5. Rab7L1 が *trans*-Golgi の形態制御に関与することが報告されていることから、LRRK2 による Rab7L1 の 72 番目のセリン残基のリン酸化が *trans*-Golgi の形態制御に修飾的に影響を与える可能性を想定し、免疫細胞化学的な検討を行った。その結果、野生型 Rab7L1 やリン酸化部位欠損型の S72A 変異型 Rab7L1 を発現させた細胞では、TGN が核近傍に集簇した形態を示した。一方、リン酸化模倣型の S72E 変異型 Rab7L1 を発現させた細胞や、LRRK2 と野生型 Rab7L1 を共発現させた細胞では TGN が細胞質に散在した形態・分布を示した。この結果から、LRRK2 は Rab7L1 の Ser72 リン酸化を介して、*trans*-Golgi の形態を制御している可能性が示唆された。

以上、本論文は **LRRK2** が細胞内において **Rab7L1** の **72** 番目のセリン残基をリン酸化し、そのリン酸化を介して *trans*-Golgi の形態の制御に関与していることを明らかにした。本研究から得られた知見は、**LRRK2** の機能ならびに **PD** 発症の分子機構解明に示唆を与えるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。