

【基盤研究(S)】

生物系(医歯薬学I)



研究課題名 新奇Gサイクルの起動制御と新たな存在様式・作動原理の統合的解析

東京大学・大学院薬学系研究科・教授 **かただ としあき**
堅田 利明

研究分野：生物系薬学、機能生物科学

キーワード：生化学、細胞情報伝達機構

【研究の背景・目的】

細胞の広範なシグナル伝達経路において、G蛋白質は分子スイッチとして機能しており、その活性はGDP結合型からGTP結合型へのコンホメーション転換(Gサイクル)によって調節される。これまでにG蛋白質は、1) 蛋白質合成過程に介在する翻訳因子群、2) 受容体刺激のシグナルを伝達する $\alpha\beta\gamma$ ヘテロ三量体、そして3) 遺伝子発現を介して細胞の増殖・分化を制御するRasや細胞の運動や輸送・分泌に介在するRho、Rab、Arfなどの低分子量G蛋白質ファミリーに分類されてきた。しかし、Ras型のG蛋白質が、RhoあるいはRab様機能である細胞接着・伸展や小胞輸送系にも介在する例が多数見出され、これまでの一次構造に基づく分類に再評価の必要が生じた。さらに本グループは、既存のG蛋白質ファミリーがもつ生化学的性状や構造とは異なる新奇のG蛋白質を多数同定しており、G蛋白質の新しい調節機構と機能は大きな広がりを見せている。

本研究では、これまでに解析の進んだ既知タイプとは異なるG蛋白質、1) 従来の刺激依存性GDP-GTP交換によるコンホメーション転換型とは異なるGTP結合待機型G蛋白質(Arf、Rasファミリーに属するArl8、Di-Ras)、2) 既知のGドメインに加えて別の機能領域も有するユニークなマルチドメイン型G蛋白質(Rab、Arfファミリーに属するRab45、Arl13b)、さらに、3) 栄養感知からmTORへのシグナル伝達に介在するヘテロ二量体のG蛋白質Ragなどを対象とした。新奇Gサイクルの起動制御と新たな存在様式・作動原理を解析し、G蛋白質分類の再評価を含めたGサイクルの統合的理解を目指す。

【研究の方法】

本研究では、GTP結合待機型とマルチドメイン型という、新奇Gサイクルの時空的起動制御と新たな存在様式・作動原理の解明に向けて、精製蛋白質標品を用いた生化学的解析、遺伝子導入やノックダウンによる細胞レベルでの分子生物学・細胞生物学的解析、さらにモデル生物(線虫・マウス)の遺伝子破壊による個体レベルでの分子遺伝学的解析等により、統合的に諸種の階層で研究を進める。特に、Gサイクルの存在様式、G蛋白質相互作用因子群の探索・同定に向けては、組織・細胞内でのインタクトな存在状態が反映されるよう、生体試料からの精製・生化学的バイオアッセイ法を進め、さらに個体レベルでの解析では、Gファミリーメンバーの数が比較的少ない線虫の遺伝学的スクリーニングを利用

する。

【期待される成果と意義】

1) 従来型と新奇型という存在様式と作動原理が異なるGサイクルを可能とする分子基盤と生理的・合目的性、2) Gサイクルの始動(GDP-GTP交換反応またはGTP加水分解反応か)と標的効果器を駆動させる実態(GTP結合型量またはGサイクル回転か)の解析から、Gサイクルの統合的理解と新たな再評価が可能となる。また、対象とした新奇Gサイクルの多くは、細胞内オルガネラ形成での機能が期待されており、存在様式と作動原理に基づいて特異性が発揮される複雑・巧妙なオルガネラ形成機構の深い理解にも貢献する。さらに、対象としたGサイクルのいくつかは繊毛病やリソソーム病とも密接に関連しており、病態の解明と診断・治療に向けても貢献できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Saito K, Yamashiro K, Ichikawa Y, Erlmann P, Kontani K, Malhotra V, Katada T. cTAGE5 mediates collagen secretion through interaction with TANGO1 at endoplasmic reticulum exit sites. *Mol. Biol. Cell.* 2011 Apr 27 [Epub ahead of print]
2. Nakae I, Fujino T, Kobayashi T, Sasaki A, Kikko Y, Fukuyama M, Gengyo-Ando K, Mitani S, Kontani K, Katada T. The Arf-like GTPase Arl8 mediates delivery of endocytosed macromolecules to lysosomes in *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Biol. Cell* 21: 2434-2442 (2010)
3. Cevik S, Hori Y, Kaplan OI, Kida K, Toivenon T, Foley-Fisher C, Cottell D, Katada T, Kontani K, Blacque OE. Joubert syndrome Arl13b functions at ciliary membranes and stabilizes protein transport in *Caenorhabditis elegans*. *J. Cell Biol.* 188: 953-969 (2010)

【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度
173,700千円

【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~seiri/katada@mol.f.u-tokyo.ac.jp>