

論文の内容の要旨

論文題目

GTP結合蛋白質DRGファミリーとその結合蛋白質の生理機能解明

指導教員 井上 純一郎 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成16年4月入学

医学博士課程

分子細胞生物学 専攻

氏名 石川 公輔

本研究は真核生物の増殖機構において重要な役割を演じていると考えられてきたGTP結合蛋白質Drg1とDrg2より成るDRGファミリーの生理機能を明らかにするため、結合蛋白質の探索を行い、同定された因子との機能の協同作用を出芽酵母系の増殖解析にて行ったものであり、下記の結果を得た。

1. Drg1とDrg2にそれぞれ特異的に結合するDfrp1とDfrp2を同定した。Dfrp1とDfrp2は約60アミノ酸の領域に相同性を持つが、他の領域に相同性は無い。細胞を用いた免疫沈降による実験から、Drg1とDfrp1、Drg2とDfrp2がそれぞれ独立した複合体を形成していることが明らかとなった。
2. Drg1、Drg2の単独のタンパク発現が抑制される現象がこれまで見出されていたが、それぞれDfrp1、Dfrp2との共発現によってタンパク発現が安定化することが新たに見出された。これはさらにHeLaS3細胞におけるDfrp1とDfrp2のノックダウン解析によっても確認された。また、Drg2のノックダウン解析によって、Dfrp2が逆にDrg2に安定化されていることも見出し、Drg2とDfrp2複合体はお互いに安定化しあっている因子であることが示された。Dfrp1とDfrp2におけるDRGファミリーの結合相手との結合必須領域を同定し、それぞれDfrp1ノックアウト、Dfrp2ノックアウトにその必須領域の欠損変異体をレスキューさせる実験により、Dfrp1によるDrg1の、Dfrp2によるDrg2の安定化効果は結合を介している制御である可能性が示された。

3. **Dfrp2** に存在する **RWD** ドメインを手がかりに、アミノ酸飢餓後の細胞の増殖メカニズムである **GCN** 経路へ制御を予想した。出芽酵母を用いて、**Dfrp2** が **RWD** ドメインを介して **Gcn1** と結合し、**Gcn2** を阻害することが示された。また、**Drg2** は **Dfrp2** の活性を促進することが示された。
4. 出芽酵母において、強度の高い **Gcn2** 活性化状態の元では、**Dfrp2** の抑制機能が細胞の増殖に有利に働くことが示唆された。

以上、本研究は **Drg1/Dfrp1** 複合体と **Drg2/Dfrp2** 複合体の安定な 2 つの高度保存制御因子群の存在を明らかにした。また本研究はアミノ酸飢餓ストレスの細胞増殖に与える影響を制御するメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられる。