

氏 名	こ じま ち え 児 島 千 恵
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 37 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	イノシトールリン脂質による Bin1 SH3 ドメインの結合性制御

論文調査委員 (主 査) 教 授 佐 邊 壽 孝 教 授 泉 井 桂 教 授 小 堤 保 則

論 文 内 容 の 要 旨

多細胞生物では、高度に制御されたシグナル伝達システムによって、外界の環境の変化に応答するだけでなく、ホメオスタシスの維持を行っている。シグナル伝達システムの破綻は癌などの疾患を引き起こす場合もあることが知られており、シグナル伝達における分子メカニズムの解明は重要な研究課題の一つである。シグナル伝達は分子間相互作用によって行われているので、シグナル伝達システムの理解のためには分子間相互作用に関与する蛋白質のドメインの結合様式の解析が不可欠である。代表的なアダプタードメインとして知られている SH3 ドメインはプロリン残基に富む配列と結合することによって、シグナル伝達を担う蛋白質複合体を形成するために作用することが知られている。

本研究では、膜の変形に関与する蛋白質である Amphiphysin II のスプライスバリエントである Bin1 に着目した。それは、Bin1 にはプロリンに富む配列と結合できる SH3 ドメインが存在するにも関わらず、全長の蛋白質ではその結合が抑制されていることが見い出されたからである。そこで、Bin1 の結合性の詳細な解析とその生理機能について検討を行った。まず、Bin1 とプロリン残基に富む配列との結合は Bin1 に存在する Exon10 と呼ばれる配列によって阻害されていることを見い出した。Exon10 は Amphiphysin II のスプライスバリエントの中で Bin1 に特徴的な15残基の塩基性に富む配列であり、イノシトールリン脂質の一つである PI(4,5)P₂ と結合することが知られている。本研究では、Bin1 SH3 ドメインが Exon10 と分子内で直接結合することによってマスクされ、そのプロリン残基に富む配列に対する結合が抑制されていることを示した。生化学的、構造化学的な手法を用いてさらなる解析を行った結果、Exon10 とプロリン残基に富む配列の Bin1 SH3 ドメイン上の結合部位は大きくオーバーラップしており、それらの結合は競合することが明らかとなった。また、疎水性相互作用によって結合するプロリン残基に富む配列とは異なり、Exon10 と Bin1 SH3 ドメインは Exon10 の塩基性残基とその表面に露出している酸性残基との静電相互作用によって結合していることが明らかとなった。さらに、*in vitro* および *in vivo* の結合実験により、Exon10 と Bin1 SH3 ドメインによる Bin1 の分子内結合は PI(4,5)P₂ によって抑制されること、また SH3 ドメインとプロリン残基に富む配列との結合は PI(4,5)P₂ によって促進されることを見い出した。このことは、Bin1 SH3 ドメインの結合が PI(4,5)P₂ によって制御されていることを示している。これまでの報告から、Bin1 は筋肉における T 管形成や分化に関与していることが知られている。Bin1 の変異体を用いた筋芽細胞の解析により、T 管形成には PI(4,5)P₂ による Bin1 の結合制御が必要であることが明らかとなった。このことは、Bin1 の結合制御によって達成される Exon10 による PI(4,5)P₂ が豊富な膜への局在と Bin1 SH3 ドメインを介した蛋白質間相互作用の同時性が重要であることを示唆している。

本研究は SH3 ドメインの結合がイノシトールリン脂質である PI(4,5)P₂ によって制御されていることを初めて例示し、その制御機構が T 管形成に関与していることを示唆したものである。本研究は、これまで蛋白質間相互作用に主眼が置かれていたシグナル伝達システム研究に対して脂質の重要性を提唱するものである。

論文審査の結果の要旨

細胞内シグナル伝達は主に蛋白質間の物理的会合（複合体形成）を介してなされる。その際、蛋白質に存在する様々な結合モジュールがその結合特異性やシグナル伝達の時空間的制御に関わる。SH3 領域はこのような結合モジュールの中でも最も初期に発見されたものの一つである。SH3 領域は一般に、プロリンに富んだペプチドと結合することが知られている。SH3/プロリンの結合は生化学的に恒常的なものであり、従ってシグナル伝達において、SH3 領域を介する蛋白質の会合過程は制御的意味合いよりむしろ蛋白質複合体形成の補助的役割であると考えられてきた。近年、SH3 領域の中にはプロリン以外のペプチドと結合できるものが見つかり、また、リガンド側のリン酸化などによって結合性が制御されている例も報告されるに至った。本研究は Bin1 と呼ばれる膜の再構成に関わるアダプター蛋白質の SH3 領域の結合性が、phosphatidylinositol 4,5-phosphate (PI(4,5)P₂) などのリン脂質によって制御されていることを見出し、Bin1SH3 領域のこの性質が Bin1 が関与することが知られている筋芽細胞の T-tubule 形成に重要であることを示したものである。NMR を用いた徹底した解析も遂行し、構造論的知見も十分に提示した。

本研究は、単に、Bin1 の SH3 領域の結合がリン脂質によって制御されていることを明らかにしたことに留まらず、このような SH3 結合の制御が細胞内で多元的におこる異なった事象（本研究の場合は、T-tubule 形成過程における PI(4,5)P₂ の生成と、Bin1 と dynamin との複合体形成による膜の invagination 過程）の同時性をもたらすことに必須のものであることを例示し、従来のシグナル伝達研究に新しい観点を提示すると共に、今後、細胞の高次機能をさらに解析する上でこのような観点からの研究の必要性を示したものである。よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成17年1月25日、論文内容及びそれに関連した分野にわたり口頭試問を行った結果、博士（生命科学）の学位を授与される能力が十分にあるものと認めた。