

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20113006

研究課題名（和文）リソソーム関連オルガネラの細胞内動態とその破綻による疾患発症の分子基盤

研究課題名（英文）Study on the cellular logistics of lysosome-related organelles and their related diseases

研究代表者

福田 光則 (FUKUDA MITSUNORI)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：50311361

研究分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：

キーワード：Rab、メラノソーム、リソソーム、スクリーニング、膜輸送

1. 研究計画の概要

リソソーム関連オルガネラはリソソームが持つシステムを利用しながら特殊な生理機能を担うようになったオルガネラで、紫外線から我々の体を守るメラノサイトなど特殊な細胞に見られる。これらのオルガネラは生命活動に必須の役割を果たすため、そのロジスティクスの破綻は種々のヒトの疾患を引き起こす。本研究課題では、メラノソームをモデル系としてリソソーム関連疾患の基盤となっているリソソーム関連オルガネラのロジスティクスの解明を目指している。具体的には、メラノソームのバイオジェネシスや輸送に関わる新規分子を同定し、その機能解明に取り組んでいる。

2. 研究の進捗状況

(1) メラノソーム輸送複合体の機能解析と機能阻害剤の探索

メラノソーム輸送に必須の役割を果たす低分子量Gタンパク質Rab27とその特異的結合分子Slac2-aの複合体のX線結晶構造を解明した。また、これらの分子をターゲットとしたメラノソーム輸送阻害剤としてクマリン酸やサンペンズエキスを化粧品メーカーとの産学官共同研究により同定することに初めて成功し、特許の出願を行った。

(2) メラニン合成酵素の輸送を制御する新規分子Varpの同定とその機能解明

メラノソームのバイオジェネシスの過程に着目し、低分子量Gタンパク質Rab32/38の特異的結合分子としてVarpを同定するとともに、Rab32/38・Varp複合体がメラニン合成酵素のメラノソームへの輸送（メラノソームの成熟過程）に関与することを突き止めた。

VarpはN末端側にRab21-GEF(グアニンヌクレオチド交換因子)活性を有するVPS9ドメインを、C末端側にアンキリンリピートドメイン(ANKR1及びANKR2)をタンデムに持ち、ANKR1ドメインを介して活性化型のRab32/38を結合することを明らかにした。また、RNA干渉法によるメラノサイトに内在性のVarp分子のノックダウンやANKR1ドメインの過剰発現により、メラニン色素合成に関わるメラニン合成酵素(チロシナーゼ関連蛋白質Typr1)の輸送障害が起こり、その蛋白質量が顕著に減少することも見出した。

(3) メラノソームの細胞内動態のライブイメージングとバーチャル化

メラノソームの長時間ライブイメージングを行い、それらのデータを元に情報科学研究者との領域内融合研究によりバーチャル細胞での一般化を目指している。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

当初の計画通り、メラノソームのバイオジェネシスに必須の役割を果たす新規因子として、Rab32/38エフェクターVarpを同定することに成功している。また、メラノソーム輸送の制御因子をターゲットとしたメラノソーム輸送阻害剤の探索も行い、阻害活性を持つ物質を同定するなど、概ね当初の計画を達成できていると考えている。

4. 今後の研究の推進方策

当初の計画に沿って、本研究課題を推進する予定である。Varpに関しては、機能未知のVPS9ドメインやANKR2ドメインの機能解

析を行い、Varp によるメラノソームのバイオジェネシス制御の詳細な分子基盤の解明を目指す。また、領域内融合研究をさらに推進し、バーチャル細胞におけるメラノソームのダイナミクス的一般化や、Varp に特異的に結合する化合物のスクリーニングを行う。

5. 代表的な研究成果
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 51 件)

1. Tamura, K., Ohbayashi, N., Ishibashi, K. & Fukuda, M. (2011) Structure-function analysis of VPS9-ankyrin-repeat protein (Varp) in the trafficking of tyrosinase-related protein 1 in melanocytes. *J. Biol. Chem.* 286, 7507-7521 (査読有)
2. Kanno, E., Ishibashi, K., Kobayashi, H., Matsui, T., Ohbayashi, N. & Fukuda, M. (2010) Comprehensive screening for novel Rab-binding proteins by GST pull-down assay using 60 different mammalian Rabs. *Traffic* 11, 491-507 (査読有)
3. Tamura, K., Ohbayashi, N., Maruta, Y., Kanno, E., Itoh, T. & Fukuda, M. (2009) Varp is a novel Rab32/38-binding protein that regulates Tyrp1 trafficking in melanocytes. *Mol. Biol. Cell.* 20, 2900-2908 (査読有)
4. Yu, E., Kanno, E., Choi, S., Sugimori, M., Moreira, J. E., Llinás, R. R. & Fukuda, M. (2008) Role of Rab27 in synaptic transmission at the squid giant synapse. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 105, 16003-16008 (査読有)
5. Itoh, T., Fujita, N., Kanno, E., Yamamoto, A., Yoshimori, T. & Fukuda, M. (2008) Golgi-resident small GTPase Rab33B interacts with Atg16L and modulates autophagosome formation. *Mol. Biol. Cell.* 19, 2916-2925 (査読有)

[学会発表] (計 75 件)

1. 福田光則: “メラニン輸送の分子メカニズム解明とその応用” 第 35 回日本化粧品学会シンポジウム (東京) 2010 年 6 月 4 日
2. Mitsunori Fukuda: “Rab small GTPases control melanosome formation and transport in melanocytes” The 1st UCL-Tohoku University Symposium (London, UK) March 15, 2010
3. 福田光則: “オートファジー制御に関与する低分子量GTPase Rabの機能解析” 第 82 回日本生化学会大会シンポジウム「低分子量GTPaseから眺めるメンブレントラフィック研究の新展開」(神戸) 2009 年 10 月

23 日

4. Mitsunori Fukuda: “Atg16L1 is a potential effector for small GTPase Rab33 that modulates autophagosome formation” 5th International Symposium on Autophagy (Otsu) September 25, 2009

5. 福田光則: “メラノソーム形成・成熟・輸送におけるRabシグナリングネットワークの解析” 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会シンポジウム「毛包形成とメラノサイト分化のメカニズム」(神戸) 2008 年 12 月 9 日

[図書] (計 1 件)

1. 福田光則: “Rab27 による分泌小胞の輸送制御メカニズム”, ブレインサイエンスレビュー2008 (ブレインサイエンス振興財団), 91-106 (2008)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称: Slac2-a タンパク質量低減剤、myosin Va タンパク質量低減剤、及び Slp2-a タンパク質量低減剤

発明者: 畑友紀、高山明美、近藤千春、板倉研、福田光則

権利者: 株式会社コーセー

種類: 特許

番号: 特願 2009-294615

出願年月日: 平成 21 年 12 月 25 日

国内外の別: 国内

2. 名称: Slp-2a タンパク質低減剤、及びミオシン-5a タンパク質低減剤

発明者: 板倉研、高山明美、近藤千春、福田光則

権利者: 株式会社コーセー

種類: 特許

番号: 特願 2009-075485

出願年月日: 平成 21 年 3 月 26 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ

http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/teacher/neuro/t_fukuda.html