

# 一次繊毛形成を制御する低分子量 G タンパク質 Rab の同定と機能解析

膜輸送機構解析分野

小口 舞

一次繊毛とは、私達の体を構成するほぼ全ての細胞に形成される突起状の構造で、細胞外からの力学的、化学的シグナルを受容するアンテナとして働いています。一次繊毛の形成時には、繊毛小胞と呼ばれる小胞が中心体上に形成され、一次繊毛の軸となる微小管の伸長と共に伸びていき、最終的に細胞膜へと融合します。このように繊毛小胞の形成や伸長には、膜成分の供給や一次繊毛形成に関わるタンパク質の輸送が必要であることから、これらの過程には膜輸送機構の制御が重要と考えられていますが、その詳細は明らかになっていません。そこで本研究では、膜輸送の主要な制御因子である Rab ファミリータンパク質に着目し、一次繊毛形成に関与する Rab アイソフォームの同定と機能解析を通して、一次繊毛形成を制御する新規の膜輸送制御機構を明らかにすることを目的として研究を行いました。

血清飢餓により一次繊毛形成が誘導されるヒト網膜色素上皮由来の hTERT-RPE1 細胞をモデル系に用いて、まず一次繊毛形成に関与する新規 Rab の網羅的ノックダウンスクリーニングを行いました。その結果、Rab34 のノックダウンによって一次繊毛形成が顕著に抑制されることが明らかになりました。次に、Rab34 の一次繊毛形成における機能を明らかにするため、Rab34 のノックアウト細胞を作製し、一次繊毛形成の異なる過程に関わる様々なタンパク質の局在を検討しました。その中で、正常な細胞では繊毛小胞を構成する小胞から一次繊毛膜上まで局在する Arl13B が Rab34 のノックアウト細胞では中心体近傍に蓄積する様子が観察されました。これらの結果から、Rab34 は繊毛小胞の形成・伸長の段階を制御していることが示唆されました。

最後に、一次繊毛形成に必須な Rab34 の領域を特定するため、変異体を用いたレスキュー実験を行いました。一般的に、Rab は結合因子（エフェクター）と協調して膜輸送を制御することが知られており、エフェクターは Rab のスイッチ II 領域を介して結合すると考えられています。そこで、スイッチ II 領域にアミノ酸変異を導入した変異体を作製し、レスキュー実験を行ったところ、この変異体でも野生型と同様に Rab34 欠損による一次繊毛形成阻害がレスキューされました。次に、Rab34 に見られる特徴的な長い N 末端領域に着目し、この領域を削った変異体を作製し、レスキュー実験を行ったところ、Rab34 の N 末端を削った変異体ではレスキュー効果は認められませんでした。これらの結果から、スイッチ II 領域ではなく N 末端領域が一次繊毛形成の制御には重要であり、N 末端を介して特異的なエフェクターと結合する可能性が示唆されました。