

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 26 年 4 月 15 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 大分大学 医学部 薬理学教室
職 名 准教授
研究代表者 木村 俊秀
勤務先所在地 〒879-5593
大分県由布市挾間町医大が丘 1-1
電 話 番 号 097-586-5722
ファックス番号 097-586-5729
E - メ - ル t-kimura@oita-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:11028)

1. 共同研究課題名	GDP 型 Rab27a シグナル分子の時間的/空間的制御機構の解析				
2. 共同研究目的	前年度は、全反射顕微鏡により膵 B 細胞のエンドサイトーシスの可視化を実現した。本年度は、本システムを用いてエンドサイトーシス実行の要となる GDP 型 Rab27a シグナルに関わる分子群の機能解析を行う。				
3. 共同研究期間	平成 25 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 3 月 31 日				
4. 共同研究組織					
氏 名	年齢	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 木村 俊秀	38	大分大学医学部薬理学	准教授	研究の総括、顕微鏡を用いた解析	
(分担研究者) 山岡 真美	30	大分大学医学部薬理学	大学院生	サンプル調製、顕微鏡を用いた解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	遺伝生化学分野		氏 名	泉 哲郎

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

Rab27a は膵 B 細胞に高発現する低分子量 G タンパク質で、インスリン分泌に深く関わっている。申請者のグループは昨年度に実施した泉哲郎教授との共同研究より、エンドサイトーシスをリアルタイムで可視化することに成功した。そこで、本研究では、このシステムを用いて Rab27a の GDP-dependent effector とそれに関わる分子群の時間的/空間的制御機構を解析する。

1. Rab27a の GDP-dependent effector に関わる分子群の機能解析

各タンパク質のグルコースによる細胞内局在変化を全反射顕微鏡でリアルタイムに解析し、各タンパク質がエンドサイトーシスのどのステップにどのように関与するのかを調べる。

2. GDP 型 Rab27a シグナルに関わる分子群の機能解析

Rab27a を GDP 型に変換する Rab27a-GAP の新規結合タンパク質の探索を行う。さらに、全反射顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡を用いて、得られた候補タンパク質の細胞内動態を解析する。

7. 共同研究の成果

1. Rab27a の GDP-dependent effector に関わる分子群の機能解析

グルコース刺激により、まずクラスリンが次いでダイナミンが細胞膜直下に集積した。GDP-dependent effector のひとつである coronin3 は、ダイナミンとほぼ同じタイミングで細胞膜直下に集積し、エンドサイトーシスの後半領域を制御することが明らかになった。本結果は、リサイクルされる分子の抗体取り込み実験や膜上のタンパク質を生化学的に定量した結果と矛盾せず、エンドサイトーシスのリアルタイムな可視化が適切に行われていることを示している。

2. GDP 型 Rab27a シグナルに関わる分子群の機能解析

申請者は、グルコース刺激により Rab27a が GTP 型から GDP 型に変換されること、その変換には Rab27a-GAP が関与することを見いだした。そこで、この変換シグナルの全容を明らかにするために、Rab27a-GAP 新規結合タンパク質を探索し、Arf6-GEF を同定した。Arf6 は、その GTP 型がクラスリンの集積を促進する低分子量 G タンパク質である。Rab27a-GAP は、Arf6-GEF と細胞内で複合体を形成するとともに、その結合は直接的であった。グルコース刺激は、Rab27a-GAP と Arf6-GEF の局在を細胞質から細胞膜近傍に移行させた。また全反射顕微鏡の結果より、グルコース刺激によりまず Arf6-GEF が、次いで Rab27a-GAP が細胞膜直下に集積することが明らかになった。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

(論文発表)

本研究成果は、現在投稿準備中である。

(学会発表)

山岡真美、岡本光弘、安藤朋海、寺林健、松永耕一、泉哲郎、仁木一郎、石崎敏理、木村俊秀
膵 B 細胞における Rab27a-GAP 新規結合タンパク質の機能解析。

第 57 回 日本糖尿病学会年次学術集会 (2014 年 5 月 大阪)