

氏名	梁 爽
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博甲第 3461 号
学位授与の日付	平成19年6月30日
学位授与の要件	医歯学総合研究科生体制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目	Major Cdk5-dependent phosphorylation sites of amphiphysin 1 are implicated in the regulation of the membrane binding and endocytosis (アンフィファイジン1の主なCdk5依存性リン酸化部位は、膜結合とエンドサイトーシスの調節に関係する)
--------	---

論文審査委員	教授 西堀 正洋 教授 筒井 公子 准教授 神谷 達司
--------	-----------------------------

学位論文内容の要旨

Amphiphysin 1 (amph 1) is an endocytic protein enriched in the nerve terminals that functions in the clathrin-mediated endocytosis. It acts as membrane curvature sensor, a linker of clathrin coat proteins, and an enhancer of dynamin GTPase activity. Amph 1 undergoes phosphorylation by cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5), at five phosphorylation sites, serine 262, 272, 276, 285, and threonine 310, as determined by mass spectrometry (MS). We show here that Cdk5-dependent phosphorylation of amph 1 is enhanced in the presence of lipid membranes. Analysis by tandem liquid chromatograph MS (LC/MS) revealed that the phosphorylation occurs at two phosphorylation sites. The phosphorylation was markedly decreased by mutation either Ser276 or Ser285 of amph 1 to alanine (S276A and S285A). Furthermore, mutation of both sites (S276, 285A) completely eliminated the phosphorylation. Functional studies indicated that binding of amph 1 to lipid membrane was attenuated by Cdk5-dependent phosphorylation of wild type (WT) amph 1, but not of the S276, 285A form. Interestingly, endocytosis was increased in rat pheochromocytoma cells expressing amph 1 S276, 285A in comparison to WT. These results suggest that Ser276 and Ser285 are regulatory Cdk5 phosphorylation sites of amph 1 in the lipid-bound state. Phosphorylation at these sites alters binding of amph 1 to lipid membranes, and may be an important regulatory aspect in the regulation of synaptic vesicle endocytosis.

論文審査結果の要旨

本研究は、シナプス小胞のリサイクリングに重要な働きをする Amphiphysin 1 の Cdk5 によるリン酸化とリン酸化部位の同定、リン酸化反応の人工脂質膜依存性、リン酸化 Amphiphysin 1 の人工脂質膜親和性等について、野生型組換え体タンパクとセリン→アラニン変異体を用いて試験管内実験で検討し、このリン酸化反応のシナプス小胞のリサイクリングにおける意義について考察した研究である。その結果、Amphiphysin 1 は Cdk5 によって主にセリン 276 とセリン 285 の 2 箇所がリン酸化されること、リン酸化は人工脂質膜の添加によって促進されることが明らかにされた。さらに、リン酸化の修飾によって、人工脂質膜への親和性が低下することが示された。これらの結果から、Cdk5 による Amphiphysin 1 のセリンリン酸化反応は、シナプス小胞のリサイクリングに抑制的に働くことが示唆された。本研究は Amphiphysin 1 のリン酸化による動態変化について重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。