

論文審査の結果の要旨

氏名 末永志郎

本論文は3章からなり、WASPファミリータンパク質 N-WASP がその活性化の後 Arp2/3 複合体を介してアクチン細胞骨格を形成するメカニズムについて解析を行っている。第1章ではアクチン細胞骨格形成に必要な N-WASP のドメインを同定している。第2章では N-WASP の塩基性領域によって規定される Arp2/3 複合体によるアクチンフィラメントの枝分かれ形成の頻度が、アクチン細胞骨格形成に重要であることを述べている。第3章では N-WASP が Arp2/3 複合体の活性化をするにあたってこれを促進する新たなメカニズムについて述べている。アクチンフィラメントの形成と消失は生物の様々な局面における形態の形成に重要な役割を果たしている。アクチンフィラメントが新たに形成される場合、その鍵となるタンパク質の一つが Arp2/3 複合体である。Arp2/3 複合体はアクチン重合の律速段階となる重合核形成及びアクチンフィラメントの枝分かれを担っているが、それ自体は不活性であり、N-WASP などの WASP ファミリータンパク質によって活性化される。すなわち、WASP ファミリータンパク質にシグナル分子が結合し、WASP ファミリータンパク質が活性化状態になると、Arp2/3 複合体を活性化し、アクチン細胞骨格の再構成を引き起こすとされている。したがって、WASP ファミリータンパク質の活性化に依存して、Arp2/3 複合体は糸状仮足（フィロポディア）や葉状仮足（ラメリポディア）、アクチンコメットといったアクチン細胞骨格形成に必要不可欠な役割を果たしている。

しかしながら、WASP ファミリータンパク質がシグナルを受け取って Arp2/3 複合体に働きかけ、Arp2/3 複合体を活性化することがどのようにしてアクチン細胞骨格形成に結びつくのかは、すなわち、フィロポディアやラメリポディア、アクチンコメットと言った構造が形成されるのか、明らかではなかった。本研究ではアクチン細胞骨格形成の *in vitro* のモデル系として N-WASP をコートしたプラスチックビーズによるアクチンコメット形成系を用いている。

論文提出者は、第1章において、アクチンコメット形成を WASP ファミリータンパク質の一つである N-WASP をポリスチレンのビーズにコーティングする事によって組織抽出液中で再現した。この系を用いて N-WASP のアクチンコメ

ット形成に必要なドメインを明らかにしている。それらは塩基性ドメインと Arp2/3 複合体の活性化ドメインである VCA ドメインであることを明らかにしている。また、Arp2/3 複合体の活性化を促進するドメインとして、WH1 ドメインを見いだしている。

論文提出者は第2章において、塩基性ドメインが N-WASP のアクチンフィラメント結合ドメインであることを明らかにしている。この活性により N-WASP がアクチンフィラメントに結合することは Arp2/3 複合体をアクチンフィラメント上に集積させ、特にあらかじめ存在するアクチンフィラメント上の枝分かれを促進することを示している。

枝分かれの促進は、生理的な条件でのアクチン重合の促進に重要である。生理条件では、自然発生的なアクチン重合を抑制するために capping タンパク質が多量に存在し、アクチンフィラメントの伸長する端（反矢じり端）の露出を防いでいる。このアクチンコメット形成系において capping タンパク質が安定に反矢じり端に結合しているため、既存のアクチンフィラメントから新たにフィラメントをのばすこと、すなわち、アクチンフィラメントの相互結合を必要とするアクチン細胞骨格形成は、枝分かれ以外には難しいと考えられる。このため、Arp2/3 複合体、および、WASP ファミリータンパク質による枝分かれしたフィラメントの形成はアクチン重合によってアクチンコメットのようなアクチン細胞骨格を形成するために重要であると考えられる。

第3部においてさらに WH1 ドメインが VCA ドメインが Arp2/3 複合体を活性化するのを助ける役割を持っていることを発見した。この活性はアクチン細胞骨格形成にアクチンコメット形成の系では本質的に重要ではないものの、これを非常に促進する役割を持っている事を *in vitro* の実験により明らかにしている。

以上の知見はアクチン細胞骨格制御の原理を明らかにする上で重要であると考えられる。

なお、本論文は東京大学の竹縄忠臣教授、三木裕明助手、山口英樹氏、千葉大学の 大日方 昂（おびなた たけし）教授、との共同研究であるが、論文執筆者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文執筆者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できるものと認める。