

# 論文審査の結果の要旨

氏名 住吉 英輔

中心体は細胞内の主要な微小管形成中心であり、紡錘体の形成に寄与することで細胞分裂に重要な役割を果たしている。中心体は二つの中心粒およびそれらを取り囲む中心粒外周物質 (PCM) から成る。PCM は微小管の形成に重要な役割を果たしている。細胞分裂期が近づくと、PCM の体積の増大および、 $\gamma$ -tubulin をはじめとする中心体タンパク質の局在量の増大が見られ、それに伴って中心体の微小管形成活性が劇的に増大する。この現象は中心体の成熟と呼ばれる。細胞周期 G2/M 期における中心体の成熟の機構は詳しくは分かっていないが、哺乳類細胞等においてサイクリン B/cdc2 複合体および POLO 様キナーゼが関与していることが知られている。これらはいずれも中心体に局在し、中心体タンパク質の中心体への局在化および紡錘体の形成に関与していることが示されている。

学位申請者住吉英輔は、線虫 *C. elegans* におけるプロテインフォスファターゼ 4 (PP4) に注目し、PP4 と中心体の成熟との関連を解析した。PP4 はセリン/スレオニン型タンパク質脱リン酸化酵素であり、哺乳類およびショウジョウバエにおいて中心体に局在することが知られている。ショウジョウバエにおいて PP4 の mRNA の発現量が減少した *cmm* 変異体は多核性胞胚期の分裂期において紡錘体の形成が起こらないという表現型を示す。また、*cmm* 変異体では  $\gamma$ -tubulin の中心体への局在が減少する。これらの知見から、PP4 は中心体の微小管形成能に関与すると考えられたが、他の生物における PP4 の機能はこれまで明らかではなかった。

学位申請者は *C. elegans* ゲノム上に二つの PP4 相同遺伝子が存在することに着目し、それらを *pph-4.1* および *pph-4.2* と名付けた。RNA 干渉法を用いて各々の遺伝子機能を阻害することにより、PPH-4.1 が体細胞分裂および精子形成時の減数分裂において紡錘体の形成に必要であることを明らかにした。また、*C. elegans* における POLO 様キナーゼである PLK-1 と  $\gamma$ -tubulin の局在に対する PPH-4.1 機能欠損の影響を調べた結果、PPH-4.1 は  $\gamma$ -tubulin および、PLK-1 の分裂期における中心体への局在化に必要であることが分かった。また、RNAi による PLK-1 機能の阻害実験を行い、線虫において PLK-1 が  $\gamma$ -tubulin の中心体への局在化に部分的ではあるが関与してい

ることを明らかにした。したがって、PPH-4.1 は部分的に PLK-1 を介して  $\gamma$ -tubulin の中心体への局在化に関与していると考えられた。

学位申請者はさらに、抗 PPH-4.1 抗体を作成し、抗体染色により PPH-4.1 の細胞内局在を観察した結果、PPH-4.1 タンパク質は分裂前期から分裂終期にかけて中心体に局在するが、間期においては中心体には局在しないことを見いだした。*C. elegans* における B 型サイクリンの相同遺伝子のうち *cyb-1* および *cyb-3* の機能を同時に RNAi により破壊したところ、PPH-4.1 の機能破壊に類似した紡錘体形成不全の表現型が見られ、PPH-4.1 の中心体への局在化が阻害された。したがって CYB-1 および CYB-3 が分裂期における PPH-4.1 の中心体への局在化に必要であることが明らかになった。以上の結果より、PPH-4.1 は *C. elegans* の体細胞分裂および精子形成時の減数分裂において、中心体の成熟に関与していると考えられた。

また、PPH-4.1 の卵形成における機能を解析するために、*pph-4.1(RNAi)*雌雄同体の成虫の生殖細胞核を DAPI 染色によって観察した。その結果 *pph-4.1(RNAi)*個体の卵母細胞においてはダイアキネシス期の核に 1 価染色体が観察され、相同染色体間のキアズマ形成に欠損が見られた。このことから、PPH-4.1 は減数第一分裂におけるキアズマの形成または、その維持にも関与すると考えられた。

以上、住吉英輔は線虫におけるプロテインフォスファターゼ 4 を解析し、それが中心体の成熟にともなう重要な因子の中心体への局在化に重要な機能を果たしていることを明らかにした。またその機能不全が、精子形成過程の減数分裂と、卵母細胞におけるキアズマ形成に重篤な欠損を与えることを見出した。これらの成果は、中心体の機能とプロテインフォスファターゼ 4 の細胞生物学的役割の理解に対して重要な知見をもたらすものであり、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。なお本論文は杉本亜砂子、山本正幸との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、住吉英輔に博士（理学）の学位を授与できると認める。