

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 山口 英樹

本研究はアクチン細胞骨格系の制御において重要な役割を果たすと考えられる WASP ファミリータンパク質に注目し、そのアクチン重合誘導活性と細胞運動に伴う細胞形態変化との関係を明らかにすることを試み、下記の結果を得ている。

1. *In vitro* でのアクチン重合アッセイにより、全ての哺乳類 WASP ファミリータンパク質 (WASP、N-WASP、WAVE1、WAVE2、WAVE3) の活性ドメイン (VCA ドメイン) が、Arp2/3 複合体によるアクチン重合核形成を活性化し、アクチン重合を誘導する活性を持つことが示された。また、この中で N-WASP が他の分子と比較し 10-20 倍強い活性を持つことが明らかになった。
2. キメラ VCA ドメインを用いたアクチン重合アッセイの結果、Arp2/3 複合体との結合サイトであるコフィリン相同/酸性 (CA) ドメインはなく、アクチンとの結合サイトであるバープロリン相同 (V) ドメインが VCA ドメインのアクチン重合誘導活性に重要であることが示された。
3. 点突然変異を導入した N-WASP の VCA ドメインの解析から、N-WASP の強いアクチン重合誘導活性は、WASP ファミリーの中で唯一 VCA ドメインに 2 つの V ドメインを持つことに起因することが示された。
4. N-WASP を COS7 細胞に強制発現させ、上皮増殖因子 (EGF) 刺激を行うと細胞運動に重要なマイクロスパイクというアクチンフィラメントに富む構造が形成される。しかし、N-WASP の VCA ドメインを活性の弱い WAVE1 のそれと置き換えたキメラタンパク質ではマイクロスパイク形成を誘導できなかったことから、N-WASP VCA ドメインの強いアクチン重合誘導活性は N-WASP によるマイクロスパイク形成に必要であることが示された。
5. V ドメインを 2 つ持つ WAVE1 VCA 変異体を作成し、そのアクチン重合誘導

活性を調べた結果、N-WASP と同程度の強い活性を示した。さらに、N-WASP の VCA をこの WAVE1 VCA 変異体と置き換えたキメラタンパク質は COS7 細胞においてマイクロスパイク形成を誘導した。従って、活性の弱い WAVE1 の VCA ドメインにおいても 2 つの V ドメインを持つことにより、マイクロスパイク形成に必要な強い活性を持つことが可能になると考えられた。

以上、本論文は WASP ファミリータンパク質の Arp2/3 複合体を介したアクチン重合誘導のメカニズムを明らかにし、そのアクチン重合誘導活性とマイクロスパイク形成との関係を明らかにした。マイクロスパイク形成は方向性を持った細胞の運動に必要なプロセスであることから、本研究は細胞運動に関わる様々な生命現象（血球系細胞のケモタキシス、発生過程における形態形成や癌細胞の浸潤・転移など）の理解に貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。