

## [別紙 2]

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 黄 錦 鴻

本研究はドッキング蛋白質 Cas のドメイン機能を明らかにすることを目的として、Cas 蛋白質の種々の欠損変異体を作製し、Cas を欠失する線維芽細胞に導入して発現させることにより、Cas の機能ドメインのうち細胞がん化に不可欠な領域を同定するとともに、アクチンストレスファイバーの形成と細胞移動能などがこれらの変異体によりどれだけ正常化するかを調べた。下記の結果を得ている。

1. 基質領域に 9 回繰り返している YDxP モチーフは CrkII との結合を介して、ストレスファイバーの形成と細胞の運動を制御していることがわかった。
2. YDxP モチーフは細胞の運動にとっても重要であるが、この場合、Src 結合領域の役割も不可欠である(図 3)。他の変異体と比べて、Src 結合領域の欠失変異体のチロシンリン酸化はかなり低くなっていることが認められ、また、接着斑に局在せず、主として細胞質に存在することが認められた。このことから、Cas が Src によりチロシンリン酸化を受け、接着斑に引き寄せられることは細胞の運動にとって不可欠であることが示された。
3. ストレスファイバーの形成と細胞の運動に関わっている Rho ファミリー GTPase のシグナルは Cas の上流ではなく、下流にあることが示唆された。

4. SH3 ドメインの欠失変異体は細胞のストレスファイバーの形成能と細胞運動能ともに影響がほとんどなく、Fak との結合も保持された。これまでに提唱されていたように Cas が Src 結合領域を介して Fak と間接的に複合体を作る可能性が示唆された。
  
5. Cas-*t* の細胞に活性型 Src と Cas のそれぞれの領域の変異体を共発現し、ソフトアガーにおける足場非依存性の増殖能を調べることで、Src による形質転換能における Cas 各領域の機能を解析した。Src 結合領域の欠失変異体は他の変異体と異なりソフトアガーにおける足場非依存性の増殖は認められなかった。つまり、活性型 Src による形質転換や足場非依存性の増殖能を獲得に際して、Src 結合領域が必要であるが示唆された。更に、活性型 Src による Cas のそれぞれの領域の変異体のチロシンリン酸化を調べた結果、Src 結合領域の欠失変異体においてリン酸化が著明に低下していることが分かった。活性型 Src による形質転換や足場非依存性の増殖のメカニズムは複雑であるが、Src による Cas のチロシンリン酸化が不可欠であることが始めて証明された。

以上、本論文はアクチンストレスファイバーの形成、細胞運動と Src 形質転換に関わるドッキング蛋白質 Cas の各ドメインの役割を明らかにした。また、Cas は各ドメインを介してそれぞれの細胞機能のシグナリングを制御する分子メカニズムも示された。本研究は癌におけるドッキング蛋白質 Cas の機能の解明にだけでなく、細胞のアクチンストレスファイバーの形成、細胞運動と Src 形質転換の分子メカニズムの解明にも貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。