

審査の結果の要旨

氏名 大石 智一

これまでテロメアで機能することが知られていたポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)の Tankyrase1 は細胞分裂期特異的に中心体局在をしめすがその意義は明らかではない。本研究は Tankyrase1 の細胞分裂期特異的な機能を明らかにするため、細胞内あるいは試験管内の系にて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Tankyrase1 は細胞分裂期特異的に蛋白質量が増加し、一部バンドが上にシフトしていることを明らかにした。さらに細胞分裂期特異的な修飾を検討し、Tankyrase1 が細胞分裂期特異的にリン酸化されていることが示された。
2. 細胞分裂期における Tankyrase1 の中心体局在およびリン酸化という観点から、同様の局在を示す分裂期リン酸化酵素の Aurora A との相互作用を検討し、細胞内および試験管内において両者が結合していることが示された。さらに結合部位の同定を行った所、Tankyrase1 のアンキリンドメイン内の Ankyrin repeat cluster (ARC) II ~ARCIVを介して Aurora A が結合していることが示された。一方、別の Aurora ファミリーである Aurora B は結合していなかった。
3. Aurora A の機能に対する Tankyrase1 の効果を検討するため、核および細胞質に Tankyrase1、核に PARP 活性を失活させた Tankyrase1 をステイブルに発現させた細胞を樹立し、核に Tankyrase1 を過剰発現させた細胞ではその PARP 活性に依存して Aurora A 過剰発現による細胞質分裂異常に起因した中心体過形成を抑制することが示された。

4. Aurora A が試験管内で Tankyrase1 によってポリ(ADP-リボシル)化されることを示唆するデータが得られているが、免疫沈降法を行った所、一過性に過剰発現させた Aurora A が Tankyrase1 ステイブル発現細胞内でポリ(ADP-リボシル)化された蛋白質として沈降してくることが示された。
5. Nocodazole 長期処理においても Aurora A 過剰発現と同様に細胞質分裂異常を誘導することができる。FACS を用いて検討した所、核に Tankyrase1 を過剰発現した細胞は Tankyrase の PARP 活性に依存して細胞質分裂異常を抑制することが示された。

以上、本研究はヒト線維芽肉腫細胞 HTC75 において、細胞分裂期に Tankyrase1 が Aurora A と直接結合していること、Aurora A 過剰発現による中心体過形成、Nocodazole 長期処理に伴った細胞分裂異常を核に過剰発現した Tankyrase1 が PARP 活性依存的に阻害していることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった細胞分裂期における Tankyrase1 の中心体局在の意義の解明に重要な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。