

## 論文審査の結果の要旨

氏名 高稻 正勝

本論文は序論、材料と方法、結果、考察、結論および参考文献から構成されている。

「序論」ではアクチン細胞骨格が担う細胞内現象、アクチン結合タンパク質(ABP)によるアクチン細胞骨格の制御について概説されている。また、真核細胞のモデル系としての、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* のアクチン細胞骨格研究についての現在までの知見が詳細に記述されている。申請者は、それらの知見は主に遺伝学的手法と分子の局在観察によって得られたものであること、分裂酵母アクチン自身の特性、および分裂酵母アクチンと分裂酵母 ABP との相互作用を *in vitro* で解析する研究が必要不可欠であるにも関わらず、これまで分裂酵母アクチンは単離されていなかったためそれができなかったことを指摘している。本研究の目的は、分裂酵母アクチンを単離精製することにより、分裂酵母においてアクチンと ABP の相互作用の解明を行うことである。

「材料と方法」では分裂酵母アクチンの精製法と、生化学的解析の手法について、詳細に記述されている。

「結果」と「考察」では、分裂酵母アクチンの精製法、分裂酵母アクチンの細胞内濃度の測定、分裂酵母アクチンの生化学的特性の解析、および 2 種類の分裂酵母 ABP(Cdc3 プロフィリンと Arp2/3 複合体)の分裂酵母アクチンに対する作用の観察について記述されている。

非筋型アクチンを精製する際には、臍臓 DNase I と G-アクチンの特異的な結合を利用した精製法が使用されることが多いが、この方法では活性のある分裂酵母アクチンを得られないことがわかっていたため、申請者は一般的なタンパク質分画法と F-アクチンの超遠心沈降を組み合わせ、活性を保持した分裂酵母アクチンを精製することに成功した。また、精製したアクチン、Cdc3、および Arp2/3 複合体を標準として、定量的イムノブロットリング法により各々のタンパク質の細胞内濃度を算定した。

次に申請者は、分裂酵母アクチンの重合特性とその繊維構造について、骨格筋アクチンとの比較をしながら、詳細に調べている。分裂酵母  $Mg^{2+}$ -アクチンは骨格筋  $Mg^{2+}$ -アクチンに比べて重合核形成が迅速に起こり、また重合度の増加が途中で減速し、その後一定の速度で徐々にプラトーに達するという、二相性の重合を示した。また、分裂酵母  $Ca^{2+}$ -アクチンは KCl 存在下で繊維ではなく、粒子構造を形成することが明らかになった。

これらは骨格筋アクチンとの相違点である。

分裂酵母プロフィリン Cdc3 は分裂酵母アクチンおよび骨格筋アクチンの重合核形成を抑制し、定常状態におけるアクチンの重合度を低下させた。Cdc3 は、骨格筋アクチンよりも分裂酵母アクチンに対して強く結合し、またより強い作用を示した。分裂酵母 Arp2/3 複合体は、その活性化因子(ウシ N-WASP あるいは分裂酵母 Wsp1)の存在下でのみ、骨格筋アクチンの重合を促進したが、分裂酵母アクチンに対しては、活性化因子が無くても重合を促進することが明らかになった。また、Wsp1 で活性化された Arp2/3 複合体は分裂酵母アクチン繊維を枝分かれさせたが、骨格筋アクチン繊維は枝分かれさせなかった。これらの結果は分裂酵母のアクチンとプロフィリン、あるいはアクチンと Arp2/3 複合体の生理的な意味での真の相互作用が明らかになったことを意味する。

「結論」では、本研究で確立された分裂酵母アクチン精製法の有用性について述べられている。また、本研究の結果から、ABP の作用を同種の生物種のアクチンを用いて検証することの重要性が論じられている。さらに、分裂酵母アクチンを含め、非筋型アクチンが繊維以外の構造を形成する可能性について述べられている。

分裂酵母のアクチンの単離精製はこれまで世界中のこの分野の研究室が試みてきたが成功しなかったものである。申請者はこれに初めて成功し、プロフィリンや Arp2/3 複合体との相互作用を明らかにした。これで分裂酵母アクチンの特殊な性質が明らかになり、また、これまで不可能であった、アクチン変異株の表現型をその生化学的特性から理解する研究が可能になった。今後さらに、ミオシンや多くのアクチン調節タンパク質との反応性を調べることによって、分裂酵母のアクチン細胞骨格の動的性質が明らかになることが期待される。本研究は細胞内アクチン構造体構築の分子機構を解明する上で大きな貢献をもたらすものであり、申請者は博士(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、馬淵一誠との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、高稻正勝に博士(理学)の学位を授与できると認める。