

論文審査の結果の要旨

氏名 押 森 直 木

本論文は2章からなる。第1章は、Polo-like kinase 1 標的中心体蛋白質 Kizuna によるM期中心体構造の安定化機構の解析について、第2章は Kizuna 結合蛋白質 Cep72 による機能的な中心体構築と紡錘体極制御について述べられている。

第1章は、細胞周期分裂期の進行を多段階に制御するリン酸化酵素 Polo-like kinase 1 (Plk1)の新規基質の同定から始まっている。Plk1 は分裂期のさまざまな現象を制御していることが示唆されているが、それらを全て説明するだけの基質はまだ同定されていない。固相リン酸化法により Plk1 基質をスクリーニングした結果、既知の基質に加え機能未知の分子を多数同定した。そのうち、中心体に局在する新規蛋白質を Kizuna (Kiz)と名付け、解析を行った。分裂期の中心体は、中心小体周辺物質 (pericentriolar material, PCM) を増加させ、紡錘体形成に必要な微小管重合活性を獲得することで成熟する。ところが、Kiz 発現抑制の場合、成熟によって肥大化した PCM が断片化し多極紡錘体が生じることを見出した。この中心体構造の崩壊は、染色体が赤道面に整列する際に派生する力が引き起こすことを実験的に説明することによって、新たな中心体制御機構の提案と Kiz の分子機能の理解を可能にしたと考えられる。一方、Plk1 は分裂期特異的に Kiz アミノ酸配列の 379 番目の Thr 残基をリン酸化することを見出し、このリン酸化が Kiz の中心体安定化機能に必要であることを明らかにした。また、中心体構造を安定化する分子機構として PCM の構造蛋白質である pericentrin と Kiz が分裂期において強固に会合していること、さらに Plk1 は Kiz のリン酸化を介して両者の結合を調節するという分子機序が明らかとなった。以上の解析から、これまで不明であった Plk1 による双極紡錘体制御の重要な基質として Kiz が同定され、Kiz の解析を通して分裂期中心体制御の新たな側面を明らかにした研究であると考えられる。

第2章では、新たな紡錘体極の制御機構を明らかにする目的で、Kiz 結合蛋白質を酵母 Two-hybrid スクリーニングによって探索した。その結果、機能未知の中心体蛋白質 Cep72 の解析を同定した。Cep72 は中心体のプロテオミクスによって同定されていたが、機能については未解析であった。Cep72 と Kiz の細胞内局在が酷似していたため、両者の局在の依存性を検討した結果、Cep72 は Kiz

の中心体局在に必須であることが明らかとなった。Cep72 発現抑制細胞においても多極紡錘体は観察された。しかし、最も頻繁に見られた表現型は、紡錘体極の γ -tubulin の収斂不全であった。 γ -tubulin は微小管重合核を構成する蛋白質であり、主に pericentrin や CG-NAP という巨大な中心体構造蛋白質と会合する形で PCM に局在していると考えられている。これらのうち、Cep72 発現抑制細胞では CG-NAP が特異的に紡錘体極から減少していることを見出した。さらに分裂期中心体の微小管重合活性が、Cep72 発現抑制、CG-NAP 発現抑制の両方で著しく低下していた。注目すべき点は、微小管重合活性に著しい低下が見られた CG-NAP 発現抑制では、 γ -tubulin の中心体局在量にほとんど影響が見られなかった。このことから、微小管重合は中心体に γ -tubulin 複合体が結合するだけでは不十分であり、CG-NAP を介した制御によってその活性が発揮されるという新たな制御の存在が示唆された。最後に、中心体の微小管重合は、染色体周辺で重合された微小管の紡錘体極への適切な輸送と結合に必要であり、Cep72 発現抑制細胞で見られた γ -tubulin の収斂不全は、紡錘体極に結合していない微小管のマイナス端を表していると考えられた。以上の解析から、Cep72 は γ -tubulin と CG-NAP の局在制御を介して中心体の微小管重合活性を制御し、さらに紡錘体極に Kiz をリクルートすることで中心体構造の維持にも関与することが明らかとなり、紡錘体極としての中心体制御の解明に大きく寄与した研究であると考えられる。

なお、本論文は、大杉美穂博士、山本雅教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及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、博士（理学）の学位を授与できると認める。