

## 審査結果の要旨

氏名 渡海（西住）紀子

遺伝情報の自己複製と細胞の分裂とは、生命の営みの最も基本的な過程である。この細胞分裂過程において、複製された染色体を2つの娘細胞に正確に分配するため、分裂装置である紡錘体が、重要な役割を担っている。紡錘体は、微小管に沿って動くモーター蛋白質であるキネシン様蛋白質ファミリー分子や細胞質ダイニンの協調的な働きにより、細胞分裂の進行に伴い非常にダイナミックに構造を変化させる。しかし、この紡錘体微小管や染色体などの一連の動きの分子機構については一部しか解明されておらず、新しいキネシン様蛋白質の同定や、機能の解析が必須である。

本研究は、新規のキネシン様タンパク質Kid (*kinesin-like DNA binding protein*) を同定し、その細胞分裂における機能を解析した。当初、癌原遺伝子 *c-erbB2* のプロモーター領域に結合する蛋白質を同定する目的でスクリーニングしたが、得られた分子は癌原遺伝子 *c-erbB2* の転写調節因子ではなく、DNA 結合活性をもつ新規のキネシン様の微小管モーター蛋白質であった。この蛋白質は、N末側(41-376a.a.)にキネシン様蛋白質の微小管モーター領域、中央にはcoiled-coil構造(465-506a.a.)を有し、C末端側は、クローニングの経緯からDNA結合すると考えられた。そこで、これをKidと命名し、以下の解析を行った。はじめにKidのDNA結合活性について、DNAセファロース結合アッセイや、ゲルシフトアッセイ等、複数の方法で確認した。一方、キネシン様モーター領域は、Kidは微小管結合能を持ち、ATP存在下で微小管から離れる事、また、微小管依存的なATPase活性を有する事から、Kidは微小管モーター活性を持つ可能性が高いことが分かった。以上のことから、KidはDNAを微小管に添って運ぶキネシン様モーター蛋白質である事が強く示唆された。次いでKidの抗体を作製し、細胞内でのKidの細胞周期における局在を蛍光免疫染色、および免疫電顕により調べた。その結果、Kidは、M期に核膜が崩壊すると、染色体と紡錘体に局在し、中期では染色体全体と紡錘体に局在した。後期に入ると染色体腕全体ではなく、極に近い側の染色体の間に筋状に局在を変えた。これらの結果から、KidはM期に於いて、染色体や紡錘体上で、染色体の動きや紡錘体形成に関与している可能性が考えられた。

そこで、細胞内でのKidの機能を解析するため、RNAi法によりKidの発現を

抑制した HeLa 細胞を観察した。その結果、M 期中期の Kid-RNAi 細胞において、染色体腕が極側に広がる様子が観察された。このことから、Kid は M 期前中期において染色体腕を極から赤道面へ押す力 (polar ejection force) を担っていることが示された。また、Kid 発現抑制細胞に Kid 変異体蛋白質の発現を戻すレスキュー実験により、Kid が polar ejection force を発揮するためには DNA 結合能とモーター活性の両方が必要な事を明らかにした。さらに、Kid 発現抑制 HeLa 細胞では、M 期中期において紡錘体の大きさが短くなることを見いだした。Kid 発現抑制細胞に Kid 蛋白質を戻し発現させるレスキュー実験により、Kid の紡錘体の大きさを維持するために必要な領域は、微小管束化活性に必須な第 2 の微小管結合領域と coiled-coil 構造であることを明らかにした。微小管束化活性は、紡錘体微小管を構造的に安定化させると考えられ、coiled-coil 構造と協調的に紡錘体の大きさ維持に働くと推測される。以上の結果から、Kid が M 期前期から中期にかけて、polar ejection force を担い、また、紡錘体の大きさの維持に貢献するという、少なくとも 2 つの機能を有していることが示唆された。一方、Kid 発現抑制細胞の M 期後期においては、染色体が分配されるものの、うまくまとまらず、最終的にはいびつな形の核や微小核が形成されたことから、Kid が染色体の間をつなぎ 1 つにまとめることで、二つの娘細胞への正確な染色体分配に寄与していることが強く示唆された。

このように、本研究は、DNA に結合する新規キネシン様モーター蛋白質 Kid を同定し、Kid が、体細胞分裂 M 期前期中期には染色体腕を赤道面に整列させ、紡錘体サイズを維持する働きをし、また、M 期後期には正確な染色体分配の実現に寄与している事を明らかにした。これらの成果は、体細胞分裂の染色体動態や、紡錘体形成過程において重要な知見であり、細胞分裂の分子機構の解明に大きく貢献する重要な発見である。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。