

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 土屋賢汰

論 文 題 目

誘導型細胞内タンパク質分解システムを活用した微小管生成および
紡錘体形成機構の研究

論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(理学)	五 島 剛 太
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(理学)	西 山 朋 子
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士(理学)	花 房 洋

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

細胞骨格の一種である微小管は幅広く生命現象に関わっており、その機能不全は様々な疾患の原因となる。微小管の構造は、 α -チューブリンと β -チューブリンが結合した α/β -チューブリンヘテロダイマーによって形成される中空状であり、伸長と短縮を繰り返す動態を示す。これまでの解析から、 α -、 β -チューブリンのサブクラスである γ -チューブリンと GCP タンパク質によって構成される γ -チューブリン複合体が微小管生成の主要因子であり、 α/β -チューブリンヘテロダイマーの鋳型となることで微小管生成が促進されることが報告されている。ところが興味深いことに、RNAi や阻害剤を用いた γ -チューブリンの部分機能阻害実験でも微小管生成が確認されており、 γ -チューブリン非依存的な微小管生成経路も存在することが予想されていた。

本研究では、誘導的にほぼ完全に標的タンパク質を検出限界以下まで分解し除去することができるオーキシン誘導型デグロン法 (AID 法) を活用して、ヒト培養細胞において γ -チューブリン非存在環境を人為的に作り出した。その状態で、微小管を一度完全に脱重合させてから再重合を促したところ、微小管が生成された。この結果は、 γ -チューブリンと独立した微小管生成経路の存在を明瞭に証明した。次に 11 種の微小管付随タンパク質の RNAi スクリーニングと複数タンパク質の同時分解実験の結果から、微小管安定化因子として知られる CLASP1 が間期と分裂期において、TPX2 が分裂期において、 γ -チューブリンに依存しない微小管生成に関わることが明らかになった。以上の結果から、細胞内において微小管付随タンパク質が γ -チューブリンと独立して微小管生成を担うことが示唆された。

次に、幅広い細胞種で細胞分裂期の紡錘体形成に重要な役割を果たすとされてきた低分子 GTP アーゼの Ran タンパク質とその制御因子 RCC1, RanGAP1 および importin- β に対してもヒト HCT116 培養細胞株で AID 法を適用した。活性化型の Ran の量を変化させた後に紡錘体形成因子の動態を観察したところ、予想に反して紡錘体微小管結合因子 NuMA, TPX2 の局在は変わらないことが明らかになった。次に、RanGTP 過剰存在下では別の微小管結合因子 HURP および HURP の活性を抑制することが知られている importin- β はどちらも微小管結合強度が向上した。さらに、HURP は微小管上をダイナミックに結合と解離を繰り返すこと微小管を安定化することが示唆された。以上の結果から、今まで不明瞭であったヒト細胞における Ran 依存的な紡錘体形成因子の分裂期特異的な局在制御機構について、現行モデルを修正した局在制御モデルを提唱するに至った。

本研究では、ヒト培養細胞において迅速かつ劇的に特定のタンパク質量を減らす手法を適用し、微小管の生成や紡錘体形成機構について新たな制御機構を見出した。以上の理由により、申請者は博士 (理学) の学位を授与される十分な資格があると認められる。