

別紙 1 - 1

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 伊藤 亜実

論 文 題 目 小頭症原因遺伝子 Asp/ASPM による
紡錘体の極収束機構の解析

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)	大隅 圭太
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

細胞分裂の際に遺伝物質を正確に配分することは、遺伝情報を維持する上で非常に重要である。動物細胞では、遺伝物質である染色体を分配するために、微小管を主要な構成因子とする菱形の分裂装置「紡錘体」を必要とする。紡錘体が持つ 2 つの極は、微小管のマイナス端側が何らかの機構で収束することで形成されるが、その収束機構に関しては不明な点が多い。

Asp は、ショウジョウバエで同定された極形成因子である。小頭症原因遺伝子として有名なヒト ASPM のオーソログであり、変異により脳サイズの減少が認められる。細胞レベルでは、Asp の機能を阻害すると、紡錘体の極領域で微小管マイナス端が収束せずに広がり、染色体の分配異常が誘発される。しかしながら、Asp や ASPM が極形成時に果たす具体的な機能は明らかになっていなかった。また、ショウジョウバエでは、極形成に関わるもう 1 つの因子としてキネシン 14 が同定されていたが、Asp とキネシン 14 がどのような協調関係で機能するかについても不明であった。

そこで本研究では、極形成時における Asp の機能を解明するために、ショウジョウバエ培養細胞を用いた細胞生物学的、生化学的解析を行った。まず、生細胞観察と多重阻害実験により、Asp がキネシン 14 とは独立に機能していることを明らかにした。次に、Asp の部分欠失遺伝子の分子活性や細胞内局在を決定することで、紡錘体微小管を束化するために必要かつ十分なドメインを同定した。また興味深いことに、生細胞観察の結果、Asp が極付近に蓄積すると同時に、紡錘体内部で形成された微小管のマイナス端にも蓄積し、微小管の動きに伴い極方向へ移動することを見出した。さらに、Asp 欠損細胞における微小管マイナス端の追跡実験から、Asp が紡錘体内部で形成された微小管のマイナス端を別の微小管と架橋することで、全ての微小管の極付近での収束を保障していることを示した。

一方、ヒト ASPM に関しては、最も一般的な小頭症原因遺伝子であるにも関わらず、細胞内における機能がほとんど明らかになっていなかった。そこで ASPM の紡錘体内機能を検証するため、ヒト培養細胞を用いた細胞生物学的解析を行った。その結果、ASPM ノックアウト株にキネシン 14 の阻害剤を加えると、紡錘体極の異常な分離が発生することが明らかになった。また、中心体依存的な微小管形成の活性化因子である CDK5RAP2 を分解すると、ASPM ノックアウト株で紡錘体の極収束異常と分裂期の著しい遅延が引き起こされることを発見した。これにより、紡錘体の極形成過程において、ASPM が中心体やキネシン 14 と冗長的に機能することが示された。さらに、小頭症患者の ASPM 変異が細胞内で及ぼす影響を検証するため、患者から同定された ASPM 変異を導入した株を作成した。その結果、CDK5RAP2 が存在しない条件で、同じような極収束異常が観察された。これにより、紡錘体の極収束異常が小頭症を発症させる原因であるという可能性が示唆された。

本研究の結果、申請者は、ショウジョウバエ Asp の極収束機能を明らかにし、紡錘体極形成機構の新たな分子モデルを構築した。また、ヒト ASPM が極収束因子であること、そして、小頭症患者の変異でも極収束異常が引き起こされることを示した。これらの結果は、紡錘体構造の理解を深めるだけでなく、小頭症の研究を推進する新たな知見となることが期待される。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ものと認められる。