

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 森脇 崇史

論 文 題 目 微小管プラス端動態の試験管内再構成

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	理 学 博 士	本 間 道 夫
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博 士 (理学)	成 田 哲 博

論文審査の結果の要旨

微小管はチューブリンタンパク質で構成された繊維状の細胞内ポリマーである。動的に重合・脱重合する微小管は細胞分裂期の紡錘体形成や細胞極性化など、真核生物の様々な細胞内現象に重要な役割を担っている。それらの役割においては、伸長と短縮を繰り返す動的な微小管が必須であることが知られている。生体内において、動的な微小管を形成するには複数の微小管関連タンパク質による制御が必要であり、環境や細胞周期などにより時空間的な制御もあることが知られている。しかし、これまで、既知の微小管関連因子を用いた試験管内反応において完全な微小管重合・脱重合サイクルの再現に成功しておらず、分子レベルで如何にこの微小管動態が生み出され、時空間的に調節されているかは明らかとなっていない。

ショウジョウバエの微小管制御タンパク質を用いた先行研究において、EB1、Sentin、XMAP215^{Msp}の3因子が試験管内において動的な微小管を生み出すことが示された。しかし、これら3因子による再構成系では、細胞内で観察されるような伸長、短縮、停止（ポーズ）の3状態のランダムな遷移を再現することはできなかった。そこで、本研究では、試験管内で細胞内の微小管動態をより忠実に再現することを目指した。そのために、不足している因子があると仮説を立て、構成要素を拡張した。

不足している因子としては新しく kinesin-13^{Klp10A} と CLASP^{Mast/Orbit} の2つの因子を加えた。そして、チューブリンおよび5つのタンパク質 (EB1、XMAP215^{Msp}、Sentin、kinesin-13^{Klp10A}、CLASP^{Mast/Orbit}) を混合することにより、3状態全てを含む動的な微小管プラス端の振る舞いを再現することに成功した。この時、これまで試験管内では全く現れてこなかったポーズ状態も観察された。CLASP^{Mast/Orbit} を除くと、ポーズがほとんど観察されないことから、他の4因子が存在する条件では CLASP^{Mast/Orbit} はポーズを引き起こすことが示唆された。

また、微小管動態の細胞周期制御についても解析を試みた。細胞周期の間期から分裂期に移行する際に、微小管はより動的になることが以前より知られていたが、その分子機構は不明なままだった。そこで、分裂期特異的なタンパク質リン酸化酵素（キナーゼ）が微小管動態を制御しているのではないかと仮説を立てた。そして、Pik1^{Polo} キナーゼが試験管内において kinesin-13^{Klp10A} と CLASP^{Mast/Orbit} をリン酸化修飾し、その活性を調節して微小管の動的不安定性を増加させることを発見した。また、Pik1^{Polo} キナーゼ阻害剤による実験により、ショウジョウバエ培養細胞内においても分裂期微小管の動態に Pik1^{Polo} キナーゼが寄与していることが示された。これらの結果から、進化上保存された上記5つのタンパク質が細胞内で動的な微小管形成のための中心的な因子であり、Pik1^{Polo} によるリン酸化が間期から分裂期への微小管動態の転換に重要なイベントであることが示唆された。

以上のように、申請者は、微小管プラス端動態の試験管内での再構成を行い、細胞内における微小管の動態制御の仕組みに重要な知見を与え、細胞生物学分野において重要な貢献を果たした。よって、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。