

別紙4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 キネシン-8の機能解析を通じた
動原体微小管の動態制御機構の解明

氏 名 江塚 智哉

論 文 内 容 の 要 旨

姉妹染色体を娘細胞に均等に分配することは生命にとって必須の過程である。この過程において、分裂期スピンドルおよび動原体は中心的な役割を果たす。動原体はセントロメアと呼ばれる特殊なクロマチン上に構築される巨大な複合体であり、スピンドル微小管と染色体が相互作用するための足場となり、微小管より生じた力を、染色体を動かす力へと変換する。染色体をスピンドル赤道面に並べるためには、微小管が動原体と先端で結合した後、その動態が安定化される必要がある。これまでに多くの動原体構成因子が同定されており、その構造および機能が詳細に解析されてきた。一方で動原体と相互作用する微小管(動原体微小管)の動態がどのように制御されているかについては不明な点が多い。

キネシン-8は生物種を通して保存されたモータータンパク質であり、分裂期スピンドル上をプラス端に向けて歩行し、動原体微小管先端に強く局在する。キネシン-8を欠損させると、長く歪んだスピンドルを生じ、染色体整列異常を引き起こす。これらの局在、表現型からキネシン-8が動原体微小管動態を制御していることが示唆されるものの、その詳細なメカニズムに関してはあまりよく分かっていない。その理由は相反するものも含めた様々な生化学的活性が報告されているためである。例えば、ヒトキネシン-8, KIF18A においては微小管脱重合を促進するという報告と、伸縮を抑制して微小管を安定化するという報告があり、論争がある。

本研究ではキイロショウジョウバエが有する唯一のキネシン-8, Klp67Aの生化学および細胞生物学的な解析を通して、動原体微小管の動態制御機構を明らかにすることを目的とした。まずKlp67Aを精製し、全反射顕微鏡を用いて一分子解析を行ったところ、Klp67Aは他種のキネシン-8と同様に、浮遊のチューブリンとの結合能を有し、微小管プラス端方向に歩行し、先端で蓄積する様子が観察された。次にKlp67Aが微小管動態に与える影響を調べたところ、Klp67Aは、伸長から短縮への転換「カタストロフ」の頻度を増大して、微小管の長さを制限すると同時に、短縮速度を抑制し、微小管の伸縮が見かけ上停止した「ポーズ」および、短縮から伸長への転換「レスキュー」の頻度を増加した。このことからKlp67Aは微小管の不安定化と安定化、両方の機能を有していることが明らかとなった。

またキイロショウジョウバエS2細胞において、Klp67Aを機能阻害してライブで詳細に追跡したところ、異常に長いスピンドルを生じ、微小管は先端で動原体と結合できるものの、その結合状態を維持できずに、高頻度で染色体整列に失敗する様子が観察された。このことからKlp67Aは分裂期前中期において、安定な動原体-微小管結合に必要なことが示された。この動原体-微小管結合の不安定化の表現型は、微小管重合阻害剤であるコルセミドを加えて、スピンドル微小管を短くしてもレスキューされなかった。一方で動原体における微小管安定化因子として知られるCLASPを過剰発現したところ、Klp67A欠損による動原体-微小管結合の不安定性がレスキューされた。これらのことから、Klp67Aの微小管動態を安定化する機能が動原体-微小管結合の安定化に決定的な役割をしていることが示唆された。