

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	佐野 (濱崎) 眞弓
論文題目	Pregnenoloneは分裂期のcentriole engagementを制御する		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞分裂の制御におけるタンパク質の機能については、これまで多くの検証がなされてきたが、脂質や代謝物質の機能についてはほとんど不明である。申請者は、コレステロール代謝物質の Pregnenolone (P5) が分裂期の centriole engagement (中心小体接着) を制御することを見出した。P5 は、チトクロム P450 ファミリーの Cyp11a1 により産生されるコレステロール代謝産物であり、すべてのステロイドホルモンの前駆体である。申請者は、HeLa 細胞において、細胞周期の進行に伴い P5 の細胞内濃度が分裂期をピークに変動することを発見した。また、P5 は分裂期の紡錘体極に集積することを見出した。次に、RNA 干渉法により Cyp11a1 をノックダウンし細胞内の P5 を枯渇させると、紡錘体の多極化が誘導されることを示した。Cyp11a1 ノックダウン細胞におけるこの異常は、P5 の添加により抑えられるが、P5 の下流の代謝産物であるprogesteroneや 17-OH-P5 では抑制されないことから、P5 が紡錘体極の安定化に貢献することを示した。さらに、この紡錘体の多極化は中心体複製の異常ではなく、本来分裂後期で起こる中心小体のかい離が、分裂前期や分裂中期の早い段階で起こることが原因であることを明らかにした。中心小体は、S 期で複製された後、コヒーシンなどの接着タンパク質により繋ぎ止められている。分裂期に入ると、分裂前期で Plk1 が接着タンパク質をリン酸化することで一部の接着タンパク質は中心小体から外れるが、一部は、short-shugoshin1(sSgo1)が接着タンパク質を Polo-like kinase (Plk1)から保護することによって残っているため、中心小体の接着は維持されている。本論文では、P5 が sSgo1 の N 末端のコイルドコイル領域に直接結合し、sSgo1 を紡錘体極に局在化させることで、分裂期における中心小体の接着維持を促進する機能を持つことを明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、コレステロール代謝産物であり、ステロイドホルモンの前駆体であるプレグネノロン(P5)が、分裂期における中心小体接着を維持する機能を持つことを明らかにしたものである。ステロイドホルモンは、標的遺伝子の転写活性を調節するゲノミックな作用が知られているが、本研究では、P5による中心小体接着は、遺伝子発現を介さないノンゲノミックな作用であることを示しており、P5の新たな作用機序を明らかにしたという点において意義のあるものと考えられる。

本研究では、P5が分裂期に濃度が上昇し、紡錘体の極周辺に濃縮することを発見した。次に、P5産生酵素のノックダウンや阻害剤を用いた解析と、代謝産物によるレスキュー実験から、P5が紡錘体の多極化を抑制する働きがあることを見出した。また、P5は中心体の複製には関与せず、分裂期における中心小体の接着維持に必要であることを明らかにした。さらに、細胞生物学的、生化学的解析から、P5は中心小体接着維持に必要なタンパク質であるsSgo1の中心体へのリクルートを促進する機能があることを示した。また、*in vitro*結合実験により、P5はsSgo1と直接結合すること、この結合ドメインはsSgo1のN末端側に存在し、この部分は中心体への局在に必要十分であることを示している。さらに、sSgo1の中心体への局在には、P5との結合に加え、二量体形成とPlk1によるリン酸化が必要であることを示した。最後に、中心小体接着維持のP5への依存性は、細胞株によって異なることを示唆する結果を示している。

本論文は、P5の機能として中心小体接着維持を初めて明らかにし、その分子メカニズムを解明したものであり、細胞分裂における代謝産物の新たな役割を提唱したものである。化学と細胞生物学の接点に着目した新しい研究領域の発展に貢献する重要な論文であるため、本論文を博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成26年12月10日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 平成27年 4月 22日