

氏 名 丹 羽 隆 介
 学位(専攻分野) 博士(理学)
 学位記番号 理博第2539号
 学位授与の日付 平成14年3月25日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
 研究科・専攻 理学研究科生物科学専攻
 学位論文題目 アクチン細胞骨格系の動態を制御するフォスファターゼ Slingshot に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 上村 匡 教授 西田 栄介 教授 米原 伸

論 文 内 容 の 要 旨

申請者は、ショウジョウバエの剛毛の形態形成に関わる遺伝子として、*slingshot* (*ssh*) 遺伝子を同定した。*ssh* 遺伝子は、新規のフォスファターゼをコードしており、真体腔動物にも保存されたファミリーを形成するものであったが、その分子機能は全く明らかにされていなかった。申請者は、SSH およびそのヒト相同分子 (hSSH) の機能を追究するために、ショウジョウバエの分子遺伝学的手法、培養細胞を用いた細胞生物学的手法、および生化学的手法を駆使した解析を行った。

申請者は、ショウジョウバエの突然変異株 *ssh* を、成虫体表に存在する細胞突起に構造異常を示す表現型から分離した。これらの細胞突起は、アクチン細胞骨格系の再編成を経て形成される。そこで申請者は、発生過程の上皮細胞でのアクチン線維の動態を観察したところ、*ssh* 機能欠損細胞でのアクチン線維の過形成を見出した。アクチン線維の過形成の表現型は、ADF/コフィリンのハエ相同分子をコードする *twinstar* 遺伝子の機能欠損細胞でも報告されている。ADF/コフィリンとは、アクチン脱重合活性を持つ分子であり、その活性はリン酸化によって負に制御されることが知られている。そこで、ハエの ADF/コフィリンのリン酸化型のみを認識する抗体を用いて解析したところ、*ssh* 機能欠損細胞においては、ハエ ADF/コフィリンのリン酸化状態が有意に昂進していた。さらに、申請者は、成虫体表の細胞突起の形成には、SSH のフォスファターゼ活性が必須であることを見出した。以上の結果から、申請者は、SSH の酵素活性が ADF/コフィリンの脱リン酸化を促し、そのことによってアクチン線維の重合が抑制される可能性を予想した。

次に申請者は、SSH の機能をさらに追究する目的で、SSH のヒト相同分子 (hSSH) を同定し、動物培養細胞系を用いた実験を行った。そして、SSH および hSSH が、培養細胞内の ADF/コフィリン分子の脱リン酸化を促進することを見出した。そして、ADF/コフィリンをリン酸化する酵素である LIMK1 および TESK の過剰発現によるアクチン細胞骨格系の再編成が、hSSH によって抑制されることを見出した。以上の結果は、SSH ファミリーの分子が、ADF/コフィリンのフォスファターゼであることを支持した。

さらに申請者は、SSH ファミリーの分子が ADF/コフィリンを基質とする可能性を検討するために、生化学的な実験を行った。そして、SSH および hSSH が、無細胞系においても ADF/コフィリンの脱リン酸化を引き起こすことを見出した。

以上の結果は、SSH ファミリーの分子が、ADF/コフィリンのフォスファターゼであることを強く示唆する。ADF/コフィリンの脱リン酸化過程は、生体内で重要な役割を担うことが示唆されていたにも関わらず、その分子の実体は長らく不明であった。本発見は、ADF/コフィリンの脱リン酸化過程の分子機構およびその生体内での意義の解明に向け、重要な手がかりとなると期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞質分裂や細胞運動などに伴う細胞形態の変化には、細胞骨格系であるアクチン線維の重合と脱重合を適切に制御する

ことが不可欠である。ADF/コフィリンファミリーの分子は、アクチン線維の脱重合の促進に必須の役割を果たす。ADF/コフィリンのアクチン脱重合活性は、リン酸化状態によって変化する。すなわち、ADF/コフィリンの第3番目のセリン残基がリン酸化されると、そのアクチン脱重合活性は抑制される。ADF/コフィリンのリン酸化状態は、細胞外刺激にตอบสนองして速やかに変化することが知られており、そのことが刺激依存的な細胞形態の変化を引き起こすと考えられている。

ADF/コフィリンをリン酸化する分子として、LIM-kinase1 (LIMK1) や Tcs-ticular protein kinase1 (TESK1) などが同定されている。また、これらのキナーゼが、細胞外の刺激や基質にตอบสนองして活性化されることも知られている。一方、刺激依存的な細胞形態の変化には、ADF/コフィリンの脱リン酸化も重要であるとされる。だが、ADF/コフィリンを脱リン酸化する酵素の実体は、ほとんど不明であった。

そうした中、本論文は、Slingshot (SSH) ファミリーの分子の分子機能を追究し、ADF/コフィリンの脱リン酸化に極めて重要な役割を果たすことを報告した。本論文は、ショウジョウバエの分子遺伝学的手法、動物培養細胞を用いた細胞生物学的手法、そして生化学的な手法を駆使し、SSHファミリーがADF/コフィリンフォスファターゼであることを、多面的なアプローチから検討した。そして、今後のADF/コフィリンの脱リン酸化過程の分子機構および生体にとっての意義の解明に、大きな先鞭を付けた。

よって、申請論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認められる。

論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格を認めた。