京都大学	博士（医　学）	氏　名	池田　智之
論文題目	Flightless-I (Fli-I) regulates the actin assembly activity of Diaphanous-related formins (DRFs), Daam1 and mDia1, in cooperation with active Rho GTPase. （Flightless-I は Rho GTPase と協調して Diaphanous-related formins である Daam1 と mDia1、のアクチン重合活性を制御している）		

（論文内容の要旨）

真核細胞では細胞形態の変化、細胞運動、細胞質分裂、顆粒輸送などの様々な細胞活動を制御するためにアクチン細胞骨格の動的な再構成が行われる。Daam1 や mDia1 などの Diaphanous-related formins (DRFs)は直線状のアクチン線維を重合し、アクチン細胞骨格の再構成において重要な役割を果たしている。GTP 結合型の活性型 Rho による DRF の活性制御が証明されている一方、pyrene 標識した精製アクチンを用いた in vitro のアクチン重合解析系では、活性型 Rho による DRFs の活性化は部分的であり、細胞内には Rho とともに DRFs を活性化する因子の存在が示唆されていた。

Pyrene 標識した精製アクチンを用いた重合解析系では野生型と同様の活性を示すが、血小板細胞質を用いたアクチン重合解析系では野生型と比べ低いアクチン重合活性を示す変異体を見いだした。血小板抽出物を用いたアフィニティー法により、野生型には結合するが前述の変異体にはほとんど結合しないタンパクとして Flightless-I(Fli-I)を見いだした。Fli-I はゲルゾリンファミリーに属し、初期発生に必要不可欠とされているタンパクである。Fli-I は Daam1 と mDia1 に直接結合し、血小板細胞質を用いたアクチン重合解析系で Daam1 と mDia1 のアクチン重合活性を促進した。NIH3T3 細胞では野生型 Daam1 の強発現によりストレスファイバーが誘導されたが、Fli-I への結合が弱い変異体の強発現ではストレスファイバーはほとんど誘導されなかった。また、Fli-I をノックダウンした細胞では、Daam1 の強発現を行ってもストレスファイバーの誘導がほとんどみられなかった。以上より Fli-I は Daam1 の細胞内でのアクチン重合に必須な因子であると考えられた。

また、Fli-I は活性型 Rho による Daam1 と mDia1 のアクチン重合活性を抑制する分子内結合の解離を促進していた。pyrene 標識した精製アクチンを用いた重合解析系にても Rho による Daam1 と mDia1 のアクチン重合能の活性化が、Fli-I を加えることにより促進された。以上のように、本研究において Rho による DRFs の直線状のアクチン重合を正に制御する新規の調節因子 Fli-I を見出した。

（論文審査の結果の要旨）

血小板の凝集反応に重要であるアクチン細胞骨格の再構成において低分子量Gタンパク Rho は重要な働きをする。血小板での Rho のエフェクター分子としてアクチン重合に必須な formin タンパクである Daam1 と mDia1 が同定されている。そして Rho による formin タンパクの活性化は、pyrene 標識した精製アクチンを用いたアクチン重合解析系では、限定的であったので Rho とともに formin タンパクを活性化する細胞質因子の存在が予想されていた。

本研究において、Daam1 と mDia1 に直接結合するタンパクとして Flightless-I (Fli-I) が同定された。Fli-I は Daam1、mDia1 と結合し、それらのアクチン重合反応を促進し、培養細胞においては、Daam1 の強発現によるストレスファイバーの誘導には、Fli-I が必須であることが示された。さらに、pyrene 標識アクチンを用いたアクチン重合解析系において、Rho による Daam1 と mDia1 の活性化は限定的であったが、Fli-I により有効に促進されることが示された。このように、本研究では、Rho と協調して formin タンパクによるアクチン形成反応を正に制御する新規因子 Fli-I が同定され、細胞内アクチン重合反応の新規モデルが提示された。

以上の研究は、血小板の関与する血栓止血学に貢献するばかりでなく、広く細胞生物学の発展に寄与するところが大きい。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認められる。

なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 12 月 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降