

氏 名	えだ 枝 まさ とし 雅 俊
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2410 号
学位授与の日付	平 成 13 年 7 月 23 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	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Rho-dependent Transfer of Citron-Kinase to the Cleavage Furrow of Dividing Cells (Citron-Kinase は Rho 活性化によって細胞の分裂溝に移行する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 月 田 承 一 郎 教 授 成 宮 周

論 文 内 容 の 要 旨

Citron キナーゼ (以下 Citron-K) は低分子量 G 蛋白質 Rho の標的蛋白であり, 活性型 Rho (GTP-Rho) とは結合するが不活性型 Rho (GDP-Rho) とは結合しない蛋白質として, Yeast-2-hybrid 法によって発見された。これまでの研究から, Citron-K は細胞質分裂の際に 2 つの娘細胞を分離する分裂溝に集積しており, かつその部分欠失変異体を過剰発現させると細胞質分裂が失敗して多核細胞が増えることから, Citron-K は種々の細胞機能の中でも特に細胞質分裂に深く関わっていることが示唆されていた。

今回申請者らは, 細胞周期の中で Citron-K の細胞内局在を詳細に調べ, また種々の細胞内シグナルを人工的に操作することによって, Citron-K の細胞内局在が Rho の活性化/不活性化と密接に連携していることを示した。

内因性 Citron-K は細胞間期には細胞質内で凝集塊を形成しているが, 分裂前中期に細胞質内にび漫性に分散するようになり, その後分裂溝に集積して, そのまま分裂後の娘細胞をつなぐ中央体に移行する。

申請者らはこの細胞内局在の変化が何らかの細胞内シグナルによるものと考え, まず活性型 Rho を細胞に過剰発現させて, その時の Citron-K の局在変化を調べた。この結果, 人工的な Rho 活性化によって Citron-K は間期細胞質内の凝集塊から細胞皮質に移行し, そこで線維様構造を作ることが分かった。この Citron-K の局在変化は Rho に特異的であり, 同じく Citron-K と結合することが分かっている Rac の活性化/不活性化, また Cdc42 の活性化/不活性化ではこの局在変化は誘導されなかった。またこの線維状構造では活性型 Rho と Citron-K の局在がほぼ完全に一致しており, この構造中で Citron-K と活性型 Rho が複合体を形成している可能性が示唆された。さらにこの線維状構造は細胞皮質でアクチン線維と相補的に局在しており, ラトランクリン A などによるアクチン脱重合で分散することが見出された。

申請者らはいつで Citron-K の細胞皮質・分裂溝への集積における活性化 Rho の役割を検証するため, 分裂中の細胞を Rho 阻害薬 C3 細胞外毒素で処理し, その時の Citron-K の細胞内局在を調べた。すると人工的に Rho が不活化された細胞では, Citron-K は分裂溝に集積せず, 紡錘体の赤道面上に微小管と一致して局在することが分かった。

以上の結果より, Citron-K は細胞間期には細胞質内で凝集塊を形成しているが, 前中期に細胞質内にび漫性に分散するようになり, その後 Rho の活性化によって微小管を介して細胞皮質に誘導され, そこで分裂溝に集積して, そのまま分裂後の娘細胞をつなぐ中央体に移行することが明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Citron キナーゼ (以下 Citron-K) は, 低分子量 G 蛋白質 Rho の標的蛋白質で, 細胞質分裂時に分裂溝に局在し, 変異体発現が分裂を阻害することなどから, 分裂時の Rho エフェクターと考えられている。

申請者は Citron-K の分裂溝への局在化機構を特異抗体を用いた内因性蛋白の免疫染色と GFP との融合蛋白の発現により解析した。その結果, ① Citron-K が間期には細胞質内で凝集塊を形成するが, 前中期にび漫性に分散し, その後分裂溝

～中央体に集積すること，②活性型 Rho の過剰発現により凝集塊から細胞皮質に移行し Rho と複合体を形成して線維様構造を作ること，この線維状構造はアクチン線維と相補的に局在し，ラトランクリン A などによるアクチン脱重合で分散すること，③ C3 酵素処理による Rho の不活化で，Citron-K の分裂溝集積は阻害され，紡錘体赤道面上に微小管と一致して局在すること，が分かった。

これらの結果から，Citron-K は間期の細胞内凝集塊から，分裂前中期に細胞質内にび漫性に分散し，Rho 活性化によって微小管を介して細胞皮質に誘導され，アクチン骨格の働きにより分裂溝～中央体に集積することが明らかとなった。

以上の研究は Rho 標的蛋白 Citron の機能発現機序の解明に貢献し，細胞質分裂の分子メカニズムの理解に寄与するところが多い。

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る。

なお，本学位授与申請者は，平成13年6月27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。