

論文審査の結果の要旨

氏名 家村 顕 自

本論文は四章からなる。第一章は序論であり、第二章は実験材料と実験手法について述べられている。第三章は実験結果について、第四章は考察と今後の展望について述べられている。

第三章・第四章については三部構成となっており、第一部は、AMP-activated protein kinase (AMPK) γ の分裂期における機能解析について述べられている。AMPK γ は分裂期における主要なリン酸化酵素である Polo-like kinase1 の基質候補分子として同定されていた。AMPK γ はエネルギー代謝に関与するリン酸化酵素 AMPK の調節サブユニットとして機能するが、分裂期における機能は未知であった。分裂期における AMPK γ 発現抑制実験の結果、染色体が赤道面に整列できない染色体整列異常の表現型がみられた。このとき、赤道面に整列できなかった染色体では誤ったキネトコア-微小管結合（シンテリック結合）が正しいキネトコア-微小管結合に修正されず高頻度に生じていた。以上の結果から、AMPK γ がシンテリック結合修正に関わる新たな分子であることを明らかにした。シンテリック結合修正機構については不明な点が多く残されており、シンテリック結合修正に関与する新規分子として AMPK γ を見出した本研究の成果は、シンテリック結合修正を担う分子基盤を解明する一助となる。

第二部では、分裂期において二極性の紡錘体構造を維持する機構について解析している。AMPK γ を発現抑制すると、シンテリック結合が引き起こされるとともに紡錘体極が収束できない表現型がみられた。この表現型は、赤道面に並べなかった染色体を多く持つ紡錘体極で顕著であった。紡錘体極は分裂期の間、染色体動態に伴い微小管から力を受ける。紡錘体極にはその力に対抗して極の構造を安定化する Kizuna と呼ばれる分子が存在する。AMPK γ 発現抑制による極の収束異常は、Kizuna を過剰発現し極を安定化することで抑制された。また、キネトコア-微小管修正を担う分裂期リン酸化酵素 Aurora B を阻害し、人為的に誤ったキネトコア-微小管結合を誘導すると、二極性の紡錘体構造が崩壊し、この表現型は微小管の張力を抑制することで回復することを示した。これらの結果から、誤ったキネトコア-微小管結合に伴い発生する微小管から紡錘体極へ

の過度な力は、二極性の紡錘体構造を崩壊させるという新たなモデルを提唱している。

第三部では、染色体整列課程の初期に必要なとされる微小管の側面を介した（側面結合）染色体の赤道面への移動について解析を行っている。側面結合染色体の移動における分子基盤はこれまで不明であったが、本論文では分裂期において側面結合染色体を効率よく観察する手法を見出し、その染色体動態を詳細に観察することで、クロモキネシン **Kid** が側面結合染色体の赤道面への移動を担っていることを明らかにしている。これまで、染色体の赤道面への移動は **CENP-E** と呼ばれるキネシンモーター分子が担っていることが報告されているが、本論文では、**CENP-E** は微小管の安定性に依存して染色体の運搬に寄与することを明らかにしている。即ち、微小管の安定性が低い分裂期の初期過程では **CENP-E** の染色体運搬に対する寄与度が低いことが明らかとなった。これらの結果から、紡錘体を形成する微小管が不安定な分裂期に初期は **Kid** が側面結合染色体を運搬し、分裂期進行とともに微小管が安定化するにしたがい **CENP-E** が染色体の運搬に寄与するという 2 種類の分子が協調的に機能し染色体を赤道面へ整列させるという新たなモデルを提唱している。

分裂期における染色体整列は多段階に調節されているが、第一部ではキネトコア-微小管結合修正という染色体整列課程の後半の課程における制御機構を、第二部では二極性紡錘体極の維持機構という染色体整列過程全域に渡って必須な機構について、第三部では側面結合染色体の移動機構という染色体整列過程の初期における過程についてこれまでの概念にない新規性に富む知見を明らかにしており、本論文は染色体整列制御機構を理解する上で有用な概念を提示したといえる。

なお、本論文第三・四章第三部は、東北大学加齢医学研究所 田中耕三教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。