

# 論文審査結果の要旨

氏名 新冨 美雪

本論文提出者は、中心体タンパク質 Cep169 の一次繊毛形成における機能を初めて明らかにし、本論文にまとめた。

一次繊毛とは、哺乳動物細胞において、静止期の細胞表面に存在する不動性のアンテナ様の構造体で、一次繊毛の基底部は、増殖期においては微小管形成中心として機能する中心体より変換されて形成されることが知られている。一次繊毛は、Hedgehog や Wnt 等の細胞外シグナルセンサーとして機能すると考えられている。その一方で、増殖期においては一次繊毛の形成は抑制されており、一次繊毛が増殖期において異所的に形成されると、細胞が静止期に移行することから、増殖期では一次繊毛の形成を抑制する機構が存在すると考えられている。しかしながら、増殖期における一次繊毛形成抑制の分子機構は不明な点が数多く残されていた。

以上の背景の中、本論文提出者は、プロテオーム解析と細胞生物学的解析を組み合わせ研究を行い、中心体タンパク質 Cep169 が増殖期における一次繊毛形成抑制因子であることを明らかにした。

本論文は、7章から構成されており、第1章では序論、第2章では材料と方法、第3章では Cep169 の質量分析を用いた解析、第4章では Cep169 の細胞内での機能解析、第5章では結論、第6章では謝辞、第7章では引用文献が述べられている。

第1章では、中心体の構造と機能、一次繊毛の構造と機能、静止期における一次繊毛形成機構、一次繊毛形成の関わる分子機構、中心体タンパク質 Cep169 について、これまでの知見を適切なイラストと共に記述した上で、本研究に至るまでの経緯及び背景が述べられている。

第2章では、実験に用いた材料と方法について述べられている。

第3章では、Doxycycline 依存的に FLAG-Cep169 を発現する HeLa 細胞（ヒト子宮頸部癌由来）の抽出液から、抗 FLAG 抗体を用いて免疫沈降により精製してきた Cep169 の翻訳後修飾及び相互作用因子を、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法により同定した結果と考察が述べられている。本論文提出者は、400 種類以上もの Cep169 相互作用因子と、Cep169 における 27 箇所のリン酸化修飾、5 箇所のメチル化修飾、4 箇所のユビキチン化修飾の同定を行った。更に、以上の解析を通し

て、Cep169 が既知の一次繊毛形成抑制タンパク質 Cep97 と相互作用することを見出し、次章で述べる細胞生物学的な解析に発展させた。

第4章では、第3章の結果より導いた Cep169 と一次繊毛の関係に着目して解析が進められている。本章では、血清飢餓培養条件下で一次繊毛形成能を有する RPE1 細胞（ヒト網膜色素上皮由来）を用いて、RNAi を介した Cep169 の発現抑制によって引き起こされる表現型の解析を行った結果と考察が述べられている。本論文提出者は、1) Cep169 が増殖期にある細胞において、一次繊毛の異所的な形成を抑制するタンパク質である事、2) Cep169 の発現抑制を行うと、一次繊毛の形成依存的に細胞が静止期に移行する事、3) Cep169 の発現抑制は、TTBK2 依存的な一次繊毛形成抑制タンパク質 Cep97 の母中心小体からの解離を引き起こす事、4) Cep169 の発現抑制は TTBK2 のタンパク質量の増加を引き起こす事を明らかにしている。以上の結果は、増殖期にある細胞において Cep169 が TTBK2 を負に制御することにより、一次繊毛を抑制している因子であることを示唆するものである。この事は、Cep169 の細胞内での新たな機能の発見であると同時に、不明な点が数多く残されていた一次繊毛形成抑制分子機構の一端を明らかにしたものである。

第5章は以上の結果が総括され、本論文全体の結論が述べられている。

本研究の成果は、中心体タンパク質 Cep169 の機能及び一次繊毛形成抑制の分子機構を理解する上で、十分な学術的価値、新規性を有すると考えられる。本論文は、実験を遂行するための十分な技量及び適切な実験方法により導かれた研究成果を、正確な図表と明快な英文によって記述している。また、共同研究者との協力により実験が行われた箇所においては、当該者の貢献を明確に区別し記述している。考察においては、実験結果より論理的に導かれる結論について、様々な可能性を含めた丁寧な議論がなされ、合理的な結論が導かれている。また、当該分野の文献は、過不足なく適切に引用されている。

本論文は、小林哲夫氏（奈良先端技術大学院大学）、根岸瑠美氏（東京大学）、谷山ゆき氏（早稲田大学）、白鳥幹大氏（早稲田大学）、森勇介氏（早稲田大学）、竹田扇氏（山梨大学）、寺田泰比古氏（早稲田大学）との共同研究であるが、本論文提出者が主体となって、実験のデザイン、実験、観察、及び解析を行ったもので、本論文提出者本人の寄与が十分であると判断できる。

従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。