

論文審査の要旨

| | | | |
|---|-------------------|------------------------|-------|
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (理 学) | 氏名 | 細羽 康介 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第①・2 項該当 | | |
| 論文題目 | | | |
| <p>Functional analysis of mammalian ZIP kinase on phosphorylation of myosin II regulatory light chain during cytokinesis</p> <p>(細胞質分裂時のミオシン II 調節軽鎖のリン酸化に関する ZIP キナーゼの機能解析)</p> | | | |
| 論文審査担当者 | | | |
| 主 査 | 准教授 | 濱生 こずえ | |
| 審査委員 | 教 授 | 菊池 裕 | |
| 審査委員 | 教 授 | 小原 政信 (附属理学融合教育研究センター) | |
| 審査委員 | 教 授 | 矢尾板 芳郎 (附属両生類研究施設) | |
| 審査委員 | 教 授 | 安井 金也 (附属臨海実験所) | |
| 〔論文審査の要旨〕 | | | |
| <p>動物細胞の細胞質分裂時に形成される収縮環は、アクチン繊維とミオシン II 繊維から構成されている。収縮環の収縮は、ミオシン II が活性化され、アクチン繊維とミオシン II 繊維が滑り合うことにより引き起こされると考えられている。ミオシン II は、その調節軽鎖 (MRLC) がリン酸化されることにより活性化される。細胞質分裂時のリン酸化された MRLC の機能に関しては、MRLC のリン酸化部位変異体を用いた研究により、リン酸化 MRLC が収縮環の形成、維持、収縮に関与していることが既に明らかにされている。しかし、収縮環の MRLC をリン酸化するキナーゼは未だ明らかになっていない。MRLC をリン酸化し、収縮環に局在するキナーゼとして、MLCK, Rho キナーゼ, ZIP キナーゼが報告されている。申請者は、これらのキナーゼの中で、哺乳動物の細胞質分裂に関与するキナーゼの同定を試みた。</p> <p>哺乳動物培養細胞の分裂期で MRLC のリン酸化を行うキナーゼを同定するために、REF 細胞の分裂期細胞抽出液を用いて MRLC リン酸化アッセイを行った。分裂期抽出液は MLCK 阻害剤や Rho キナーゼ阻害剤存在下でも MRLC をリン酸化した。また、分裂期抽出液からイムノディプリションにより ZIP キナーゼを除いた抽出液は MRLC のリン酸化が減少した。これらの結果から、ZIP キナーゼが分裂期での主要な MRLC キナーゼであることが明らかになった。</p> <p>ZIP キナーゼの細胞内局在を観察できる市販の ZIP キナーゼ抗体がなかったため、ZIPK に対するモノクローナル抗体を作製した。この抗体により、ZIP キナーゼが分裂期 HeLa 細胞において、間期のストレスファイバーと収縮環に局在することを明らかにした。</p> <p>ZIP キナーゼの細胞質分裂での機能を解析するために siRNA を作製し、ZIP キナーゼの発現抑制を行った。ZIP キナーゼの発現抑制により、収縮環のリン酸化 MRLC の局在量が</p> | | | |

コントロールと比較して低下することが明らかになった。また、ZIP キナーゼの発現抑制により、全細胞に対する多核細胞の割合が増加した（コントロール比で約 6 倍）。しかし、それでも多核細胞の割合は 10%程度であったため、90%程度は正常に分裂していると考えられる。そこで、細胞質分裂をより詳細に解析するために、収縮環の収縮速度の測定を行った。ZIP キナーゼを発現抑制した細胞の収縮環の収縮速度はコントロールと比較して低下することから、正常に細胞質分裂が行われたとしても、その速度は低下していることが見出された。この結果から、ZIP キナーゼが細胞質分裂の進行と完了に関与していることが明らかになった。

ZIP キナーゼの発現抑制による多核細胞の増加や収縮環収縮の速度低下がリン酸化 MRLC 量の減少に起因するかどうかを明らかにするために、ZIP キナーゼの発現抑制細胞に疑似リン酸化 MRLC 変異体を発現させた。その結果、ZIP キナーゼ発現抑制細胞への疑似リン酸化 MRLC の導入により、多核細胞の割合や収縮環収縮の速度がコントロール細胞と同様のレベルにまで回復した。この結果から、ZIP キナーゼが MRLC のリン酸化を介して細胞質分裂の進行と完了を調節していることが示唆された。

本論文は、ZIP キナーゼは分裂期における主要な MRLC リン酸化キナーゼであること、ZIPK による MRLC のリン酸化は細胞質分裂の調節に必要であることを初めて明らかにした。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

Phosphorylation of myosin II regulatory light chain by ZIP kinase is responsible for cleavage furrow ingression during cell division in mammalian cultured cells

Kosuke Hosoba, Satoshi Komatsu, Mitsuo Ikebe, Minato Kotani, Xiao Wenqin, Taro Tachibana, Hiroshi Hosoya and Kozue Hamao

Biochemical and Biophysical Research Communications, 459(4), 686-691, 2015