

第 8 号様式

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 歯 学 )	氏名	常松 貴明
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
Aurora-A controls pre-replicative complex assembly and DNA replication by stabilizing geminin in mitosis (Aurora-A は細胞分裂期において geminin を安定化することで複製前複合体形成や DNA 複製を制御する)			
論文審査担当者			
主 査	教授	内田 隆	印
審査委員	教授	兼松 隆	
審査委員	准教授	飛梅 圭	
〔論文審査の要旨〕			
<p>DNA 複製は生物にとって根源的な現象であるため、厳密に制御されている。しかし、無秩序な自律性増殖を特徴とする癌では、DNA 複製機構の破綻を来し、染色体異常が生じると考えられている。従って、DNA 複製機構の詳細を明らかにすることは、癌の発生・進展を理解するためにも非常に重要な課題である。真核生物では膨大な量の DNA を効率よく複製するため、複数の複製開始点を染色体上に形成するが、過剰な複製を抑制するため、DNA 複製期(S 期)より前の G1 期に複製開始点を染色体上に形成し、S 期以降での形成はなく、再複製を抑制している。この DNA 再複製の抑制に中心的な役割を果たす分子として geminin が知られている。複製開始点の形成はライセンス化と呼ばれ、ライセンス化因子である Cdt1, ORC, MCMs などからなる pre-RC(複製前複合体:pre-replicative complex)が DNA 上に形成されることによる。geminin は S 期以降、Cdt1 に直接結合することで、ライセンス化を抑制し、細胞分裂終了まで複製を阻害する。geminin は、細胞周期依存的にユビキチン分解によりタンパク量が制御されている。すなわち、geminin は、G1 期に Anaphase Promoting Complex/Cyclosome ユビキチンリガーゼ複合体である APC/C<sup>Cdh1</sup>によりユビキチン化され、分解されるが、S-G2 期においては、APC/C の抑制分子である Emil(early mitotic inhibitor 1)により APC/C 活性が抑制されるため、安定化することが報告されている。しかしながら、Emil は SCF<sup>TRCP</sup> ユビキチンリガーゼ複合体により、細胞分裂期初期に分解されることから、細胞分裂期では APC/C が活性化し、種々の基質タンパクを分解す</p>			

る。しかし、geminin は、APC/C が活性化している細胞分裂期でも発現しており、特殊なタンパク安定化機構を有すると考えられるが、その詳細は明らかにされていない。

そこで本研究では、細胞分裂期における geminin のユビキチン分解制御機構とその意義に関して、詳細な検討を行った。まず、Cyclin A などの APC/C の一般的な基質タンパクと異なり、細胞分裂期においても geminin タンパクが安定化していることを確認し、この時期特異的に 25 番目のスレオニン残基がリン酸化されていることを見出した。また、このリン酸化は、geminin と APC/C<sup>Cdh1</sup> との結合を阻害することでユビキチン化を抑制することを明らかにした。加えて、geminin は、分裂期初期に活性化する APC/C<sup>Cdc20</sup> によってもユビキチン化されることを見出し、25 番目のスレオニン残基のリン酸化は、分裂期後期に活性化する APC/C<sup>Cdh1</sup> のみならず、APC/C<sup>Cdc20</sup> によるユビキチン化も阻害すること明らかにした。興味深いことに、分裂期に geminin タンパクを安定化する 25 番目のスレオニン残基のリン酸化は、分裂期キナーゼである Aurora-A によって生じることを証明した。

次に、細胞分裂期における geminin のリン酸化による安定化の意義を調べるため、Aurora-A の siRNA による発現抑制や阻害剤を用いて、分裂期における geminin の動態及び pre-RC 形成への影響を検討した。細胞分裂期における siRNA の導入あるいは阻害剤による Aurora-A の抑制は、geminin タンパクを不安定化させるとともに、Cdt1 も不安定化させ、次の G1 期における pre-RC 形成を阻害した。詳細な検討の結果、分裂期において geminin は Cdt1 に結合し、再複製を抑制するとともに、そのタンパク安定化を介して、次の G1 期における pre-RC 形成に関与することを明らかにした。

これらの結果より、細胞分裂期において、geminin は Aurora-A により 25 番目のスレオニンがリン酸化され、そのリン酸化が APC/C<sup>Cdc20</sup> 及び APC/C<sup>Cdh1</sup> ユビキチンリガーゼ複合体による geminin のユビキチン化を阻害し、再複製を抑制するとともに、Cdt1 の安定化を介して、次の G1 期での適切な pre-RC 形成に関わることを明らかにした。

以上の結果から、本論文は細胞分裂期における geminin のリン酸化による安定化が、適切な DNA 複製に必須の機構であることを証明している。Aurora-A、geminin 及び Cdt1 はいずれも多くのがんで過剰発現が報告されていることから、本研究で明らかにした geminin を中心とする DNA 複製調節機構の破綻ががんの発生や進展に深く関わる可能性が示唆される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(歯学)の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。