

学位論文要旨

Functional analysis of mammalian ZIP kinase on phosphorylation of myosin II regulatory light chain during cytokinesis

(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)

細羽 康介

ZIP kinase (ZIPK) は Death associated protein kinase (DAPK)ファミリーに属する分子であり、アポトーシス経路において機能していることが良く知られている (Kawai *et al*, 1998)。また、過剰発現させた ZIPK が細胞分裂時に形成される収縮環に局在することから、ZIPK が細胞分裂時において機能している可能性が示唆されたが、その機能の解明は成されていない (Preuss *et al*; 2004)。我々は以前、この ZIPK がミオシン II 調節軽鎖 (MRLC) をリン酸化する活性を有すること、さらに、リン酸化 MRLC は収縮環の収縮速度を調節していることを報告した (Murata-Hori *et al*; 2001, Asano *et al*; 2009)。これらの知見から、ZIPK が MRLC のリン酸化を介して細胞分裂を制御しているのではないかという仮説を立て、その可能性について検討を行った。

まず、ZIPK に対するモノクローナル抗体を作製し、ZIPK の内在性の局在を分裂期の HeLa 細胞において観察したところ、収縮環領域に局在しており、外在性の局在と一致していることを見出した。次に、ZIPK の機能を解析するために siRNA を作製し、ZIPK のノックダウンを行った。その結果、ZIPK ノックダウンにより、収縮環の収縮速度がコントロールと比較して低下することを見出した。また、ZIPK をノックダウンした細胞の収縮環におけるリン酸化 MRLC の局在を観察したところ、1P-MRLC、2P-MRLC の局在量が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。さらに、ZIPK ノックダウンによる収縮環の収縮速度の低下は疑似リン酸化 MRLC の導入によりレスキューされた。これらの結果から、ZIPK 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 のリン酸化は収縮環の収縮速度の調節に必要であることを初めて明らかにした。