



Title	Regulation of Rho-family GTPases during Cytokinesis
Author(s)	吉崎, 尚良
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47525
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	吉 崎 尚 良
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20602 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 6 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Regulation of Rho-family GTPases during Cytokinesis (Rho ファミリー G タンパク質の細胞質分裂への関与)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松浦 善治 (副査) 教 授 目加田英輔 教 授 堀口 安彦

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

細胞質分裂は、染色体分離にならんで、細胞分裂の重要な機構である。それゆえ細胞分裂装置、及びその装置のシグナル伝達は時間的、空間的に厳密に制御されていることが予想されている。Rho はこの分裂面の形成過程と、分裂溝の陥入過程に作用することが報告されている。しかし、Rho の活性がどのように変化するかはこれまでは知られていなかった。申請者は、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した活性モニター分子を用い、細胞分裂時の Rho ファミリー G タンパク質の活性変化を解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

(Rho の活性モニター分子の開発) 申請者は緑色蛍光タンパク質の変異体と FRET の原理を利用し、RhoA の活性モニター分子 (Raichu-RhoA) を開発し、Rho の細胞内の動態を調べた。Raichu-Rho は、YFP、GTP 結合型 Rho の標的分子である PKN、RhoA、CFP、およびファルネシル化シグナルからなるキメラ分子を作製し Raichu-Rho とした。Raichu-Rho を発現した 293T 細胞を可溶化し、蛍光スペクトルを測定すると、FRET 効率は Rho の恒常活性化型、野生型、優性不活性化型の順に高かった。また Rho の活性化因子 p115RhoGEF を共発現すると、p115RhoGEF の濃度依存的に FRET 効率が上昇し、不活性化因子 FGrit を共発現すると発現量依存的に FRET 効率が減少することから、Raichu-Rho が Rho の活性を反映していることが確認された。

(細胞分裂における Rho ファミリータンパク質の活性変化) G2/M/G1 を通した RhoA、Rac1 の活性を HeLa 細胞でモニターしたところ、ともに M 期開始後、細胞収縮に伴い活性が減少した。その後 RhoA の活性は終期に入り、細胞質分裂の進行とともに上昇した。一方 Rac は終期に入っても分裂溝付近を中心に活性は低いままであり、細胞分裂後、娘細胞の伸展になり活性が上昇した。Rho の GEF である Ect2 の優性劣性変異体発現細胞で分裂溝付近の Rho の活性上昇が阻害され、また、Rho の標的分子 ROCK の阻害剤でも細胞質分裂が遅延した。すなわち、Ect2-RhoA-ROCK 経路が細胞質分裂に重要であることが確認できた。一方、これまで細胞質分裂における関与があまり報告されていない Rac に関しては以下のことがわかった。1) Rac の GAP である MgcRacGAP の優性劣性変異体発現細胞において分裂溝における Rac の活性低下が見えなくなったことから、分裂溝付近での Rac の不活性化は MgcRacGAP によるものと考えられた。2) Rac の恒常活性化型変異体とその標的分子 Pak の恒常活性化型変異体は、ともに発現細胞の多核化を誘導したことから、Rac-Pak 経路の活性抑制が細胞質分裂の進行には必要らしい。3) Pak は、MLCK

を抑制することが知られているが、この MLCK の阻害剤である ML-7 は細胞質分裂を遅延させる。以上の結果は、MgcRacGAP による Rac-Pak 経路の阻害が、MLCK の活性上昇をもたらし、これが細胞質分裂を促進することを示唆する。

〔 総 括 〕

M 期に起こる細胞の収縮、分裂、伸展といった一連の形態変化に Rho ファミリーの活性変化が関与することが示唆された。また収縮環の収縮にはこれまで報告されてきた Ect2-Rho-ROCK を介する系のほかに、MgcRacGAP-Rac-Pak-MLCK を介する経路が存在することを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

細胞分裂は細胞が増殖するためには不可欠であり、発生・創傷治癒や再生や血管新生など様々な生物現象に重要である。細胞分裂時の細胞形態の変化はアクチン骨格系を調節する Rho ファミリー分子が調節していると考えられている。これまで Rho が細胞分裂でどのように機能しているかは、予想されてはいたが細胞内のどこでどのように時間的・空間的に活性化されるかは不明であった。申請者は、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した Rho ファミリー G 蛋白質の活性モニター分子を開発し、細胞分裂時の Rho ファミリー G タンパク質である、Rho、Rac、Cdc42 の活性変化を解析することにより、Rho は細胞質分裂の進行に働き、Rac は抑制に働くことを明らかにした。細胞質分裂に対する Rac の関与および Rho ファミリー G 蛋白質活性の時空間制御については新規の報告であり、当該研究分野の発展に寄与した。以上の結果を鑑みて申請者の行った研究は学位の授与に値すると考えられる。