

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | The functional analysis of GAK (cyclin G associated kinase) during mitosis  |
| Author(s)    | 清水, 寛之  |
| Citation     | 大阪大学, 2009, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/49320">https://hdl.handle.net/11094/49320</a>   |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | し　みず　ひろ　ゆき<br>清　水　寛　之   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（工　学）  |
| 学位記番号      | 第　２３１０７　号   |
| 学位授与年月日    | 平成21年3月24日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>生命機能研究科生命機能専攻   |
| 学位論文名      | The functional analysis of GAK (cyclin G associated kinase)<br>during mitosis<br>(M期におけるGAK (cyclin G associated kinase) の機能解析) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教　授　野　島　　博<br><br>(副査)<br>教　授　田中亀代次　　教　授　花岡　文雄　　教　授　米田　悦啓   |

## 論文内容の要旨

## 【Introduction】

GAK (cyclin G associated kinase) is a serine/threonine kinase that was initially identified as an association partner of cyclin G. GAK is homologous to neuron-specific auxilin that plays a pivotal role in clathrin-dependent membrane trafficking. As expected from this structural similarity, the ubiquitously expressed GAK protein localizes to the trans-Golgi network and functions in membrane trafficking as an essential cofactor for uncoating of clathrin-coated vesicles.

Recently, it was reported that clathrin is targeted to the mitotic spindle at the onset of mitosis. Depletion of clathrin caused abnormal chromosome segregation and mitotic arrest mediated by the spindle assembly checkpoint (SAC). Moreover, clathrin localized in the nucleus and was required for the transactivation of p53 target genes.

These reports lead us to hypothesize that GAK also play similar roles in the nucleus as an association partner of clathrin. Indeed, we recently showed that GAK localizes not only in the cytoplasm but also in the nucleus. In this thesis, I will report on the novel function of GAK during mitosis.

## 【Abstract】

When GAK is depleted by siRNA, we detected two abnormal phenotypes. One is the SAC-mediated mitotic arrest, which resembles the phenotypes of clathrin knockdown cells. Interestingly, clathrin diffused into the cytoplasm in GAK knockdown cells, which shows that GAK functions in the upstream of clathrin. In addition, the percentages of prometa/metaphase cells of clathrin and GAK double knockdown cells do not differ from those of the single GAK mutant. These results suggest that GAK and clathrin function cooperatively not only in endocytosis but also in mitotic progression in the same pathway. The other is the multiaster formation, namely, GAK knockdown cells harbor abnormal number of centrosomes. This is due to the fragmentation, as gauged by  $\gamma$ -tubulin foci, from prophase through to metaphase. Moreover, transcription of Plk1 that is known to phosphorylate Kizuna and protect centrosome structure was suppressed by GAK knockdown, causing reduction of Kiz phosphorylation. Taken together, we conclude that GAK plays an essential role in metaphase/anaphase transition and centrosome organization.

## 論文審査の結果の要旨

真核生物の細胞周期におけるM期の制御については未知の点が多く残されている。申請者は膜輸送制御に重要な役割を果たすGAKがM期進行にも関与していることを明らかにした。まずGAKをノックダウンすると、染色体整列異常を起し、それを感知したスピンドルチェックポイントの活性化によって細胞がM期で停止することを見出した。次に、この現象にエンドサイトーシスに必須なクラスリン（CHC）が関わっていること、およびGAKはCHCの上流に位置しながら、M期進行においてもCHCと協調的に機能していることを見出した。一方、GAKノックダウンで細胞周期制御因子として重要なPik1の発現量が減少したことを様々な角度から検証することで、GAKがPik1遺伝子の転写制御にも関わっていることを見出した。こうしてエンドサイトーシスとM期進行という一見関係ないように思われる現象の間に緊密な関係があることを証明した。この申請者の発見は細胞周期という生命現象に重要な知見をもたらし、分子細胞生物学の進展に貢献した。以上の理由により、申請者は博士（工学）の学位に値すると考える。