

	いけだ まさのり
氏名（本籍地）	池田 真教
学位の種類	博士（生命科学）
学位記番号	生博第238号
学位授与年月日	平成24年7月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科，専攻	東北大学大学院生命科学研究科 （博士課程）分子生命科学専攻
論文題目	Furry controls spindle pole and centriole integrity through the activation of Polo-like kinase 1 (Furry は Polo-like kinase 1 の活性化を介して紡錘体極と中心小体の安定性を制御する)
博士論文審査委員	(主査) 教授 水野 健作 教授 杉本 亜砂子 教授 福田 光則

論文内容の要旨

Formation of bipolar mitotic spindle is essential for accurate chromosome segregation into two daughter cells. Mitotic spindle is primarily nucleated from two opposite centrosomes, each consisting of paired centrioles surrounded by electron-dense matrix called pericentriolar material. Spindle microtubules emanating from two centrosomes capture duplicated chromosomes via their kinetochores and align them on the center of the spindle at metaphase. After all chromosomes are aligned, they are symmetrically segregated toward opposite spindle poles. Therefore, defects in spindle bipolarity in mitosis lead to multipolar spindle formation and genomic instability. Furry (Fry) is an evolutionarily conserved protein in eukaryotes and its orthologs in yeast, nematode and fruitfly are implicated in cell division and morphogenesis through the activation of NDR kinases. We previously reported that in human cells, Fry is accumulated on spindle poles and spindle microtubules during mitosis, whereas it diffusely distributes in the cytoplasm in interphase. We also showed that depletion of Fry in HeLa cells caused the impaired chromosomal alignment on metaphase plate and the disorganized multipolar spindle formation. Although our results showed that Fry is required for chromosome alignment via NDR1 activation, little is known about the mechanism by which Fry controls bipolar spindle organization. In this study, I identified polo-like kinase 1 (Plk1) as a novel Fry-binding partner, which is one of the mitotic kinases crucial for spindle pole integrity and bipolar spindle formation. I showed that Fry physically associates with Plk1 through the polo-box domain of Plk1. Fry preferentially bound to Plk1 during the early mitotic phase, in a manner dependent on the Cdk1-mediated Fry phosphorylation at Thr-2516. Fry binding promoted the kinase activity of Plk1 in cell-free assays, and depletion of Fry reduced the kinase activity of Plk1 in mitotic HeLa cells. I also demonstrate that Fry binds to Aurora A and enhances Aurora A-mediated Plk1 phosphorylation at Thr-210, and depletion of Fry reduces the level of Thr-210 phosphorylation of Plk1 on mitotic spindle poles. Furthermore, depletion of Fry resulted in centriole splitting in mitosis and loss of Shugosin-1, a Plk1 substrate that functions as a protector of centriole disengagement, on spindle poles. These results suggest that Fry is involved in Aurora A-mediated activation of Plk1 on mitotic spindle poles and plays a crucial role in maintaining centrosome and centriole integrity and spindle bipolarity by promoting Plk1 activity in early mitosis.

論文審査結果の要旨

細胞分裂期における双極性紡錘体の形成は遺伝情報の娘細胞への正確な分配を保障する重要な機構である。紡錘体形成の異常は異数性細胞を増加し、細胞死や細胞癌化を引き起こすことが知られている。Furry は酵母からヒトまで高度に保存された分子量 300K を超える蛋白質で、酵母、線虫、ショウジョウバエでは細胞の分裂や形態形成の制御に関与することが知られているが、哺乳類 Furry の機能についてはほとんど明らかにされていない。本研究では、ヒト細胞における Furry の細胞機能を解析し、Furry が Polo-like kinase 1 (Plk1) の活性化を介して、双極性紡錘体の形成と中心小体の安定化に重要な機能をもつことを解明した。HeLa 細胞の内在性 Furry の発現を small interfering RNA (siRNA) によって抑制すると、分裂期中期の染色体整列の異常、多極紡錘体の形成、中心体及び中心小体の不安定化が誘導されることを見出した。また、Furry は分裂期前期に Cdk1 により Thr-2516 がリン酸化され、このリン酸化依存的に Polo-box を介して Plk1 が結合することを見出した。また、Furry は分裂期キナーゼである Aurora A とも結合し、Aurora A による Plk1 の Thr-210 のリン酸化と活性化を促進することを見出した。さらに、Furry の発現抑制により、Plk1 の基質であり中心小体の安定化に関与する Shugoshin-1 のリン酸化レベルが減少することを見出した。以上の結果から、Furry は分裂期において Plk1 と結合し、Aurora A による Plk1 の活性化を促進し、Plk1 の基質である Shugoshin-1 のリン酸化を介して中心小体の安定化と紡錘体の双極性の維持に関与していることが解明された。さらに、Plk1 と Aurora A は Furry の C 末端領域をリン酸化すること、この C 末端領域を欠失すると Furry の微小管への結合能が上昇することを見出し、Furry の細胞内局在を制御する機構を明らかにした。本論文は、動物細胞分裂時の双極性紡錘体形成と中心小体の安定化の新たな分子機構を解明した。よって、本論文は、著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって、池田真教提出の論文は、博士（生命科学）の博士論文として合格と認める。