

【目的】細胞分裂では微小管からなる紡錘体が染色体を正確に娘細胞に分配する。微小管は α チューブリンと β チューブリンで構成されるチューブリン二量体が管状に数珠つなぎになることで形成される。微小管を構成するチューブリンは多数のユニークな翻訳後修飾を受ける。その中に α チューブリンのカルボキシル末端のチロシンが切断除去される脱チロシン化、さらに次のグルタミン酸が切断除去される $\Delta 2$ 化がある。我々は以前、 $\Delta 2$ 化されたチューブリンからさらに次のグルタミン酸が切断除去される $\Delta 3$ 化を発見同定した。本研究は、この新規の翻訳後修飾 $\Delta 3$ 化が微小管、特に細胞分裂時の紡錘体微小管に与える影響を検証することを目的として行われた。

【方法】 α チューブリン $\Delta 3$ 化の影響を検証するために、膵癌細胞株 PANC-1 細胞に対して $\Delta 3$ 化した α チューブリンを導入した。対照として未修飾状態の α チューブリンを導入した PANC-1 細胞を用意した。導入方法は一過性の過剰発現と、ゲノム編集技術を用いてゲノム上の α チューブリン遺伝子座にノックインする方法の2種類を用いた。 $\Delta 3\alpha$ 化チューブリンを発現させた PANC-1 細胞、未修飾 α チューブリンを発現させた PANC-1 細胞の紡錘体の形態を解析し、紡錘体に対する α チューブリン $\Delta 3$ 化の影響を検証した。さらに、 $\Delta 3$ 化 α チューブリン、未修飾 α チューブリンをノックインした PANC-1 細胞を培養し、1日毎の細胞数を計測し、細胞の分裂能に対する α チューブリン $\Delta 3$ 化の影響を検証した。また、 $\Delta 3$ 化 α チューブリン、未修飾 α チューブリンをノックインした PANC-1 細胞の核の大きさを定量解析し、染色体分配に対する α チューブリン $\Delta 3$ 化の影響を検証した。

【結果】一過性過剰発現、ノックインによる安定恒常発現いずれにおいても、 $\Delta 3$ 化 α チューブリンの発現により、PANC-1 細胞において異常な形態を示す紡錘体の発生頻度が上昇した。さらに、 $\Delta 3$ 化 α チューブリンのノックイン安定恒常発現により、PANC-1 細胞の分裂増殖が減少した。紡錘体の形態異常発生頻度の増加に合致して、 $\Delta 3$ 化 α チューブリンのノックイン安定恒常発現により PANC-1 細胞において核の肥大化が観察された。以上のことから、 α チューブリンの $\Delta 3$ 化は紡錘体の構造を不安定化し、染色体の分配異常、それらに起因する細胞分裂の異常による細胞増殖の低下を引き起こすことが示唆された。

$\Delta 3$ 化 α チューブリンの発現による紡錘体の形態不安定化

