

氏名	THE MON LA
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博 甲第 6116 号
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)

学位論文題目	Phosphorylation of cortactin by cyclin-dependent kinase 5 modulates actin bundling by the dynamin 1-cortactin ring-like complex and formation of filopodia and lamellipodia in NG108-15 glioma-derived cells (サイクリン依存性キナーゼ 5 によるコルタクチンのリン酸化は、ダイナミン 1-コルタクチン複合体によるアクチン線維束とグリオーマ由来細胞 NG108-15 の糸状仮足、葉状仮足の形成を調節する)
--------	--

論文審査委員	教授 伊達 勲	教授 大橋俊孝	准教授 寶田剛志
--------	---------	---------	----------

#### 学位論文内容の要旨

Cortactin is an actin-binding protein highly expressed in growth cones of neurons and it binds directly to dynamin, endocytic GTPase protein. The dynamin-cortactin complex mediates the actin bundle formation which is important for generation of filopodia and lamellipodia in cell migration and invasion. However, the regulatory role of dynamin-cortactin complex in actin bundle formation is still unknown. Cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) is cyclin dependent kinase family member and involved in neurites outgrowth and neuronal migration. In this study, we investigated the role of CDK5 in phosphorylation of cortactin and actin bundle formation by the dynamin-cortactin complex. CDK5 directly phosphorylates cortactin at the sites of T145/T219 in vitro. Three phosphomimetic mutants (T145D, T219D and T145DT219D) of cortactin were prepared by substitution of aspartate in place of one or both of threonine residues. The phosphomimetic mutants reduced actin binding affinity. Moreover, actin bundling activity was also decreased although the phosphomimetic mutants bound to dynamin 1. In electron graphs, phosphorylated cortactin could not form ring like complex with dynamin 1. It was also demonstrated that aberrant lamellipodia, short filopodia and decreased cell migration in phosphomimetic mutants expressing NG108-15 cells. These results suggest that phosphorylation of cortactin by CDK5 regulates actin bundle formation mediated by dynamin 1-cortactin complex which is crucial in genesis of lamellipodia and filopodia for cell migration.

#### 論文審査結果の要旨

ニューロンの growth cone には actin 結合タンパクである cortactin が高発現している。また、cortactin は GTPase タンパクの dynamin に直接結合する。細胞の遊走と浸潤について、filopodia と lamellipodia が関与するが、これには actin bundle 形成を仲介する dynamin-cortactin 複合体が重要である。しかしながら、dynamin-cortactin 複合体が actin bundle 形成をどう制御しているかについては十分研究がなされていない。

本研究では CDK 5 (cyclin-dependent kinase 5) が cortactin のリン酸化、dynamin-cortactin 複合体による actin bundle 形成にどのように関わっているかを検討した。Cortactin の 3 種類の phosphometric mutants (T145D, T219D, T145DT219D) を用いて調べたところ、actin binding affinity が減少した。また、actin bundling 活性は、これらの mutants が dynamin に結合するにもかかわらず減少した。Mutants についての電顕観察では、リン酸化した cortactin は ring 状の複合体形成ができなくなった。

この研究は CDK5 による cortactin のリン酸化が dynamin-cortactin 複合体に仲介される actin bundle 形成を制御しているという重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。

よって本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。