

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	後藤 千恵子
論文題目	植物における核膜形態維持の分子機構		
(論文内容の要旨)			
<p>真核生物の細胞核は、二重の膜構造 (核内膜および核外膜) と核膜孔複合体、および核ラミナで構成されている。核膜の形態維持において中心的な役割を果たしているのは、核内膜を核質側から裏打ちしている核ラミナと呼ばれる網目の層状構造体である。動物細胞では、核ラミナは中間径フィラメントタンパク質のタイプ V に分類されるラミンとその結合タンパク質から構成されている。一方、植物細胞では、これまでに、CROWDED NUCLEI1 (CRWN1) というコイルドコイルタンパク質がラミンと同等の機能を持つ核膜タンパク質の候補として同定されている。CRWN1 は、ニンジンで生化学的に同定された核マトリックスタンパク質 NUCLEAR MATRIX CONSTITUENT PROTEIN1 (NMCP1) のシロイヌナズナのホモログである。CRWN1 とラミンとの間にアミノ酸配列上の相同性はないが、コイルドコイル領域をもつ点、核膜に局在する点、および核の形態に影響を及ぼす点はラミンと共通している。このように、植物細胞は動物細胞と同様の核ラミナ構造をもつが、その構造の構成分子に関する知見は乏しい。本研究では、植物細胞の核ラミナ構造を維持する分子の同定を目指した。</p> <p>細胞の分化状態や病気により、細胞核の形や大きさは異なる。モデル植物のシロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) では、分裂組織と孔辺細胞の核は球形であるのに対し、その他の分化および発達が進んだ表皮細胞の核は紡錘形である。各組織において核が固有の形態をとる機構が存在していると推測されるが、その分子機構はよく分かっていない。核の形や大きさに影響を与える因子が数多く存在する中で、特に核質成分を取り囲んでいる核膜という構造が直接的に核の形や大きさに影響を与えていると考えられる。本研究では、シロイヌナズナの正遺伝学的手法により単離された核の形態異常を示す変異体 <i>kaku2</i> および <i>kaku4</i> に注目した。<i>kaku2</i> および <i>kaku4</i> の核は、野生型では紡錘形の核を示す細胞で球形を示す。<i>kaku2</i> の原因遺伝子は CRWN1 をコードしており、<i>kaku4</i> の原因遺伝子は種子植物に特異的な機能未知のタンパク質 (KAKU4 と命名) をコードしていた。KAKU4 は核内膜の核質側、すなわち核ラミナのある位置に局在していた。また、免疫沈降および酵母ツーハイブリッドアッセイの結果、KAKU4 と CRWN1 が相互作用することが示された。</p> <p>興味深いことに、シロイヌナズナやタバコに KAKU4 を過剰発現させると、核膜の顕著な変形が認められた。即ち、核周縁部で核膜が波打つような形態の形成、核膜の核内部への陥入、核のブレブ構造や核内リング状構造の形成が誘導された。KAKU4-GFP 過剰発現体の透過型電子顕微鏡解析でも、二重膜である核膜の湾曲や陥入、および核膜付近での膜の層状構造が観察された。KAKU4 の過剰発現に起因する核膜の変形はシロイヌナズナの変異体 <i>crwn1</i> でも確認されたことから、KAKU4 が過剰に蓄積すれば CRWN1 非存在下でも核膜の変形は起こるといえる。その一方で、タバコにおいて KAKU4 と CRWN1 を同時に過剰発現させると核膜の変形度合が昂進した。このことから CRWN1 は KAKU4 による核膜変形に対し相乗的な作用を示すと考えられる。総じて、植物特異的な核ラミナタンパク質と考えられる KAKU4 と CRWN1 が、核膜の形態維持を通じて核の形や大きさに影響を与えていることが示された。本研究で発見された KAKU4-CRWN1 複合体は、植物細胞の新規の核膜の構成成分として興味深いものである。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

後藤千恵子氏が注目した植物細胞の核ラミナ構造は、核の機能を制御する重要な構造体であるにも関わらず、その構成成分に関する情報は非常に乏しい。動物細胞の核ラミナの主要な成分であるラミンは、中間系フィラメントに分類される繊維状タンパク質である。しかし、これまでに解読された植物のゲノムには中間系フィラメント遺伝子はない。本論文では、植物細胞の核ラミナの構成成分を同定することを目的としている。

後藤氏は、モデル植物シロイヌナズナの分子遺伝学的手法を用いて、核ラミナの構成成分の有力候補として、KAKU4-CRWN 複合体を初めて同定し、これらの因子の存在量が核の形態維持に重要であることを示した。植物の核膜上には SUN-WIP-WIT 複合体が存在し、核内膜から核外膜までを橋渡ししており、この複合体はミオシン XI-i を介して細胞質のアクチンフィラメントとつながっている。これらの因子の欠損変異体は全て KAKU4 や CRWN1 の欠損変異体と同様の核の形態異常を示す。後藤氏の発見から、KAKU4-CRWN1 複合体と SUN-WIP-WIT 複合体が相互作用することにより、核質と細胞質をつなぐ役割を担う新たな可能性がみえてきた。

本研究で新規に発見された KAKU4-CRWN1 複合体は、核で生じる様々な生命現象を解析するための分子基盤になるという点からも評価された。核膜は核質と細胞質を分断するバリアであるだけでなく、様々な核の機能に関与する。動物細胞において、核ラミナはクロマチン構造の維持、DNA の複製、転写などに関わっており、ヒトではラミンやその結合タンパク質の異常によって早老症や筋ジストロフィーといった重篤な遺伝病が生じる。KAKU4やCRWN1 のさらなる機能解析によって、シロイヌナズナの分化や発達に関連した転写の制御機構などについて新たな知見が得られるという発展性も十分に認められる。

本研究は、植物細胞の謎であった細胞核のラミナ構成成分の有力候補成分を同定したもので、この分野の研究に新しい視点を与えたものとして高く評価された。本論文の内容の一部は、植物科学の有力国際学術誌の一つである *The Plant Cell* 誌に掲載された。後藤氏が実施した研究の質は高く、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年5月27日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。その結果合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降