

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 KOZGUNOVA Elena

論 文 題 目

Functional analysis of Haspin kinase role in plant cells

(植物細胞におけるハスピンキナーゼの機能解析)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所

教 授 博士(理学) 東 山 哲 也

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 博士(理学) 五 島 剛 太

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 農学博士 吉 岡 泰

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

植物の発生過程において、細胞は分裂と伸長によって生長する。細胞分裂は、遺伝情報を均等に分配するために重要な、生命の基本的な過程であるが、細胞分裂に異常をきたすと、遺伝情報の過不足だけではなく、分裂パターンにも異常が生じるため、細胞分裂は厳密に制御されなければならない。その制御には多くのタンパク質が協調して働くことが重要であるが、それらの多くはリン酸化されることにより制御されている。細胞分裂を調節するキナーゼとしては、CDK、Plk、オーロラキナーゼといったいくつかのキナーゼファミリーが知られているが、その研究のほとんどは動物中心で行われており、植物における細胞分裂の制御機構の多くは未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、分裂期キナーゼの一つであるハスピンキナーゼの機能を明らかにすることで、植物における細胞分裂の制御機構の解明に迫ることを目的とした。

申請者は、ライブイメージングと機能解析を組み合わせることで、ハスピンキナーゼ、基質、また下流メカニズムを解析した。材料としては、細胞の分裂頻度が高く、分裂過程の観察が容易なタバコ培養細胞 BY-2 を用いた。植物ハスピンキナーゼの機能を解析するために、ヒトハスピンキナーゼの ATP 拮抗阻害剤として報告されていた 5-Indotubercidin (5-ITu) を用いた。植物でも、5-ITu は *in vitro*、*in vivo* の両方において、ハスピンキナーゼのキナーゼ活性を阻害し、ヒストン H3 Thr3 のリン酸化を抑制した。BY-2 細胞に 5-ITu を添加したところ、分裂指数の低下と分裂期の遅延が観察され、特に、分裂前中期および中期において、染色体の整列異常が観察された。また 5-ITu 処理により、タバコハスピンキナーゼ NtHaspin の局在に影響は見られなかったが、タバコオーロラキナーゼ NtAUR3 のセントロメア局在が阻害されたため、NtHaspin のキナーゼ活性は、オーロラキナーゼのセントロメア局在を調節していることが示唆された。このことより、NtHaspin と NtAUR3 は同じ経路に存在し、分裂前中期および中期において、染色体整列を制御していることが示唆された。

一方、分裂期後半において、5-ITu 処理により、細胞板の拡大伸長が途中で停止し多核細胞となる、重篤な細胞質分裂異常が観察された。5-ITu 処理による倍数化は、NtAUR3 キナーゼ活性阻害では見られなかったことより、分裂前中期および中期における機能とは異なることが考えられた。そこで、植物において既知の細胞質分裂制御因子である、オーロラキナーゼ AUR1/2、NACK-PQR 経路、あるいは微小管動態や小胞輸送に 5-ITu 処理の影響は見られなかった。さらに解析を進めた結果、細胞板におけるアクチンフィラメントの分布に変化が見られた。ラトランクリン B によりアクチン重合を阻害したところ、細胞板の拡大伸長の速度は減少するが途中で停止することはなかった。このことより、アクチンフィラメントは NtHaspin および未知の因子により細胞板の拡大伸長に関わることが示唆された。

申請者は、植物細胞における細胞分裂を調節する重要な因子として、NtHaspin を同定した。NtHaspin は細胞分裂期において、前半の分裂前中期および中期では、NtAUR3 のセントロメア局在を介して染色体整列に寄与し、後半では、細胞質分裂において細胞板の拡大伸長調節に関わっていることが明らかとなった。このように、NtHaspin は染色体整列と細胞質分裂という細胞分裂の根幹をなす二つの過程を繋ぎうる重要な因子であることを明らかにしたことより、本研究は、植物の細胞分裂制御機構の解明に大きく貢献するものと期待される。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。