

別紙1-1

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 吉田 真理

論 文 題 目 植物における微小管依存的な細胞内輸送機構の研究

論文審査担当者

主 査	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	教授	博士(生命科学)	小 田 祥 久
委 員	名古屋大学大学院生命農学研究科	教授	博士(農学)	中 道 範 人

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

細胞内輸送は生命のさまざまなプロセスを支える基盤的な現象である。動物細胞において「従来型キネシン」として知られるキネシン-1 や、神経軸索での働きがよく知られているキネシン-3 は、細胞内のさまざまな物質を微小管プラス末端側へ（順行性）輸送する分子モーターとして広範な役割を果たしている。一方、陸上植物はキネシン-1 やキネシン-3 などの動物における主要な順行性輸送モーターを遺伝的に欠失している。そのため、薬理的証拠から複数の組織で微小管依存的なオルガネラ輸送メカニズムが示唆されているにもかかわらず、動物のキネシン-1 と同等な役割を果たす分子モーターは未だ同定されていなかった。

本研究では、微小管に依存した細胞内現象の研究に有用な基部陸上植物ヒメツリガネゴケ *Physcomitrium patens* をモデルとし、植物の細胞内輸送に関わるキネシンの同定とその役割の解明することを目的とした研究を行なった。まずは巨大なオルガネラである細胞核の順行性輸送を担うモーターをとって、植物特異的キネシン ARK (Armadillo Repeat-containing Kinesin) タンパク質群を見出した。ARK はテール依存的に核周囲へ局在化することができ、かつ、微小管上の長距離歩行活性を持つモーターであることが細胞内および試験管内での観察で示された。作出した ARK 3 重変異体では核のみならず葉緑体、ミトコンドリア、小胞を含む複数のオルガネラの微小管プラス末端側への動きが抑制されることを発見した。ARK のドメイン解析により、ARK がテール領域を介して積荷と相互作用し、その歩行活性によってオルガネラ輸送を遂行する主要な順行性輸送モーターであることが示された。

オルガネラ配置の表現型に加え、ARK 3 重変異体では先端成長速度が大幅に低下しており、その結果として細胞の長さが顕著に短縮していた。ヒメツリガネゴケの先端成長を駆動する細胞先端のアクチン構造を観察したところ、ARK 3 重変異体ではその形成と維持が阻害されていることがわかった。また、ARK 3 重変異体ではアクチン調節因子の細胞先端への局在化が減少していることがわかった。これらの因子の減少が表現型の原因であるかどうかを明らかにするため、因子の一つである RopGEF3 と ARK モータードメインが融合したコンストラクトを作成し RopGEF3 タンパク質を強制的に細胞先端へ局在化させた。その結果、ARK 3 重変異体が示す先端成長異常の表現型が大幅に抑圧された。つまり、ARK の歩行活性が RopGEF の先端局在を促進し、下流の細胞先端アクチン構造の形成と維持に寄与する可能性が示唆された。

最後に、ARK ファミリーの分子機能の保存性について検証するため、種子植物シロイヌナズナの ARK ホモログである AtARK2, AtARK3 をクローニングし、ヒメツリガネゴケ ARK 3 重変異体で発現させた。その結果、AtARK2 はオルガネラ分布と先端成長を、AtARK3 は先端成長の表現型を部分的に抑圧した。つまり、シロイヌナズナとヒメツリガネゴケの間で ARK の輸送モーターとしての役割が保存されていることが示唆された。

本研究では、ヒメツリガネゴケの ARK キネシンが多様な積荷を運搬し、成長において重要な機能を果たす順行性輸送モーターであることが示され、その機能の一端は他の植物でも保存されていることを強く示唆するデータが呈示された。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と認められる。