

別紙 1－1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 山田 萌恵

論 文 題 目 Kinesin-14 の機能解析を通した
植物細胞内輸送機構の解明

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（理学）	東山 哲也
委 員	名古屋大学遺伝子実験施設	教 授	理学博士	杉田 護

論文審査の結果の要旨

微小管依存的な細胞内輸送は生物にとって重要な活動であり、動物細胞内では 2 つの分子モーター、kinesin と細胞質ダイニンによって駆動される。Kinesin は微小管プラス端方向、細胞質ダイニンはマイナス端方向への輸送を担い、2 つのモーターが協調して機能することで微小管上の両方向性輸送が遂行される。しかしながら、陸上植物はダイニン遺伝子群を進化の過程で失ったため、マイナス端方向性輸送がどのようにして行われているのかは不明であった。興味深いことに、ヒメツリガネゴケでは核や微小管断片が微小管依存的に輸送されることが報告され、植物細胞内にも微小管依存的な細胞内輸送機構が存在することが示唆された。そこで、植物にはダイニンの代わりにマイナス端方向性輸送を担うモータータンパク質が存在するのではないかという仮説を立て、陸上植物で重度に重複した *kinesin-14* 遺伝子に着目した。Kinesin-14 はマイナス端方向に一步だけ歩行できることで知られる特殊な kinesin である。本研究はヒメツリガネゴケに存在する 6 種の *kinesin-14* を網羅的に解析することで、仮説を検証した。

まず、生化学的解析と生細胞観察から class VI kinesin-14 である KCBP がクラスター化することでマイナス端方向への長距離歩行活性を獲得することを見出した。次に、*KCBP* 遺伝子破壊株を樹立して表現型を解析したところ、細胞分裂直後の微小管依存的な核輸送遅延や葉緑体配置異常が認められた。また、KCBP は細胞質全体に分布することに加え、分裂直後には核周縁部に集積した。さらに、この時期の微小管極性は KCBP の核輸送方向と一致していた。これらの結果は、KCBP が複数のカーゴを輸送する微小管依存的なマイナス端方向性モーターとして機能することを示唆している。

次に、Class I kinesin-14 である ATK が原糸体細胞内で微小管断片を輸送することを見出した。ATK は動植物で広く保存された kinesin-14 であり、ATKa の動態観察を行ったところ、細胞分裂装置・フラグモプラストを構成する微小管上でマイナス端方向に長距離歩行する様子が認められた。また、細胞質微小管の観察から分岐型生成微小管輸送の際に、ATK が輸送起点に高頻度で局在することを見出した。誘導型 ATK RNAi 株を樹立し、分岐型生成微小管輸送を解析したところ、RNAi 株では輸送頻度の低下が認められた。これらの結果は、ATK が細胞質及びフラグモプラスト内で微小管断片を輸送するモーターであることを示唆している。

さらに、表現型解析とタンパク質の動態解析から、Class II kinesin-14 である KCH がプラス端方向性モーターである ARK と拮抗的に働く核輸送モーターであることを見出した。*KCH* 遺伝子破壊株の原糸体細胞では中心に位置するはずの核が細胞先端に異所的に局在し、細胞の先端成長も顕著に抑制された。KCH は微小管のプラス端とアクチンが集積する細胞先端で微小管と共局在し、*KCH* 遺伝子破壊株では微小管の集積が安定的に維持されなかった。KCH のトランケーションタンパク質を発現させた *KCH* 遺伝子破壊株では、核の配置異常は回復したが、先端成長抑制は回復しなかった。これらの結果は、KCH が核を輸送するマイナス端方向性モーターであると同時に、細胞骨格の架橋によって先端成長を促進する多機能な kinesin であることを示唆している。

本研究によって、ヒメツリガネゴケに 6 種類存在する kinesin-14 のうち、3 種類がマイナス端方向性輸送モーターとして機能することが明らかとなった。本研究の結果は、独自に進化した植物の細胞内輸送機構に重要な知見を与えた。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ものと認められる。