

植物核ラミナを構成する NMCP2 族タンパク質の構造とダイナミクス

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 作物生理学 引田 陸

1. 緒言

植物の細胞核には核ラミナに局在するコイルドコイルタンパク質 NMCP があり, ラミン類似機能を持つことが示唆されている。多重アライメント系統解析を行うと, NMCP は NMCP1, NMCP2, およびコケ類などに見られる, それらのプロトタイプの3つのファミリーに分類される。NMCP1 および 2 はいずれも間期細胞の核表層に局在するが, 有糸分裂の際には, 異なる様式で娘細胞に組み込まれる。すなわち, 核膜崩壊とともに脱重合した NMCP1 は, 紡錘体付近に分散した後, 極に移動している染色体の表層に局在し, その後, 核膜の核質側に広がる。一方, NMCP2 は, 分裂期細胞質に小胞状の構造として分散し, 細胞質分裂と連動して核ラミナに取り込まれる。しかし, 間期細胞や細胞分裂期細胞における核ラミナの役割は, 未だ推定の域を出ていない。それを明らかにする目的で, NMCP2 の高次構造と形質転換した BY-2 細胞における動態について調べた。さらに, コケやシャジクモで予測された NMCP 関連タンパク質を解析し, NMCP が植物固有のタンパク質であると推定した。

2. 材料および方法

NMCP の系統解析とヒメツリガネゴケ NMCP の局在性解析: データベースから得られた NMCP のアミノ酸配列情報をもとに, 系統解析を行った。また, ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens* subsp. *patens*) NMCP の cDNA を特定し, タンパク質発現ベクターに挿入後, 大腸菌で発現させ, 抗体を作製した。この抗体を用いて, 間接蛍光抗体法により, 細胞内局在性を調べた。**NMCP の微細構造の解析:** セロリ培養細胞のプロトプラストをホルマリンで固定し, 間接蛍光抗体法および ZENON 法により, NMCP1, NMCP2 および DNA を染色した。画像は STED (stimulated emission depletion) 超解像顕微鏡を用いて取得した。また, 大腸菌で発現させたニンジン NMCP2 を *in vitro* で再構成し, ロータリーシャドウイング法およびネガティブ染色法により染色し, 電子顕微鏡を用いて解析した。**GFP::NMCP2 融合タンパク質のタイムラプス観察:** 形質転換した BY-2 細胞の GFP::NMCP2 融合タンパク質のダイナミクスを共焦点顕微鏡により解析した。

3. 結果および考察

1 NMCP の系統解析により, シャジクモ (クレブソルミディウム藻, *Klebsormidium flaccidum*) やミズゴケに NMCP 類縁タンパク質があり, 被子植物のプロトタイプであることが示唆された。また, ヒメツリガネゴケ NMCP が細胞核表層に局在することがわかった。2 STED 顕微鏡解析によって, NMCP1 および 2 は不規則な繊維構造を形成し, 核表層クロマチンは NMCP が作る層を超えて細胞質側に分布しないことが示された。*In vitro* でも NMCP2 は繊維構造を形成した。3 有糸分裂後期から終期にかけて, NMCP2 は新しく合成され, 分裂時に核表層から細胞質に分散した NMCP2 とともに小胞様構造となって核膜に補充された。

核ラミナ構成要素として植物固有のタンパク質 NMCP が存在し, その起源はシャジクモやコケ植物の類縁タンパク質であると推定された。核ラミナは NMCP の繊維構造からなり, 核内膜とクロマチンの間に層を形成することにより, 核内膜-染色体間相互作用に関わっていると推測された。NMCP2 の挙動から, 有糸分裂後の核膜の成熟に, ゴルジ体からのラミナタンパク質の供給が必要であることが示唆された。