

# 植物核ラミナの構成タンパク質のダイナミクスに関する研究

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 作物生理学研究室 山崎倫寛

## 1. はじめに

核ラミナは真核生物の核膜の構成要素の一つであり、タンパク質からなる網状構造である。動物細胞の有糸分裂時には、核ラミナの構成タンパク質であるラミンは細胞質中に分散したのち娘核に再集合し、これは核膜の崩壊と再構築に重要な役割を果たす。ラミンの細胞質への分散はリン酸化により引き起こされる。ラミンは繊維状アクチンとも相互作用し、これもラミンのダイナミクスの制御に寄与する可能性がある。一方、植物核ラミナを構成する NMCP1 のダイナミクスにリン酸化が関わるかは不明である。NMCP1 の核局在シグナル近傍の領域はアクチン関連タンパク質 7 (ARP7) と相互作用するが、この相互作用の生理的意義も不明である。本研究では、NMCP1 のリン酸化と NMCP1-核内アクチンの相互作用に関して解析を行った。

## 2. 方法

高等植物の NMCP1 においてリン酸化される可能性が高い部位を、タンパク質データベースの情報とラミンのリン酸化部位を基にして予測した。セロリ培養細胞の単離核を GSK3 (NMCP1 をリン酸化しうると予測されたタンパク質リン酸化酵素) と反応させたのち、高濃度の NaCl で処理してタンパク質を溶出し、これを遠心して可溶性画分と不溶性画分に分け、各画分における NMCP1 をウェスタンブロッティングで検出した。核内アクチンを可視化するため、低分子のアクチン結合タンパク質に蛍光タンパク質と核局在シグナルを付加した融合タンパク質 (ACB-mCherry-NLS) を作成した。それを、AtCRWN1-GFP (シロイヌナズナにおける NMCP1 オーソログに GFP を融合させたもの) と共にタバコ BY-2 培養細胞に発現させ、有糸分裂時の核内アクチンと AtCRWN1 の同時イメージングを行った。

## 3. 結果と考察

高等植物の NMCP1 ホモログ間で保存性が高いセリンとスレオニンが、ラミンのリン酸化部位に対応する領域に存在した。その中で、核局在シグナル近傍の領域には GSK3 によってリン酸化されうるセリンとスレオニンが存在した。しかし、単離核を GSK3 と反応させても、NMCP1 は可溶性画分からは検出されず、不溶性画分からのみ検出された。ACB-mCherry-NLS は、細胞周期に応じて核または細胞質から検出され、AtCRWN1 とは異なる局在パターンを示した。

## 4. まとめ

NMCP1 の核局在シグナル近傍に保存されたリン酸化部位、および GSK3 によるリン酸化反応は、NMCP1 の可溶性に影響を与えないことが示唆された。しかし、NMCP1 において保存されたセリンとスレオニンは今後も解析の余地がある。有糸分裂中に核内アクチンが NMCP1 と相互作用する可能性は低く、分裂終期において両者は異なるメカニズムによって核へ移行することが考えられた。