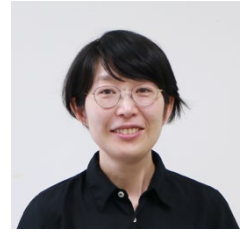


植物細胞核内アクチン繊維の解析

Analysis of nuclear actin microfilaments in plants

大阪公立大学 稲田 のりこ



真核生物の細胞は、細胞核や小胞体、ミトコンドリアなど、様々な細胞小器官・細胞内構造で構成されている。そのような細胞内構造の一つであるアクチン繊維（AF）は、主に細胞表層に局在し、細胞の形や細胞内における細胞小器官の位置を制御している、というのが、従来の教科書的な見方である。一方、近年の動物培養細胞における研究で、遺伝情報の保管場所である細胞核内にも AF が存在し、遺伝子発現や損傷 DNA 修復など、細胞にとって重要な様々な機能の制御に働いていることが明らかになっている。細胞核内 AF は、細胞内の新たな構造として注目されているものの、まだ動物培養細胞を含む一部の生物でしか報告がなく、特に植物での報告がないことから、その一般性・重要性は明らかになっていない。

私はこれまでに、葉の老化や、微生物病原体に対する病害応答など、様々な植物生理機構を制御する仕組みを、細胞レベルで明らかにする研究に取り組んできた。その中で、AF の構造・動態制御に関わるタンパク質、アクチン脱重合因子（ACTIN DEPOLYMERIZING FACTOR、ADF）が、モデル植物シロイヌナズナにおいて病害応答や植物成長の制御に働いていること、病害応答の制御には ADF の細胞核局在が重要であることを明らかにした（Inada et al. 2016）。さらに、ADF の欠損変異体（*adf*）では、細胞核内構造の形態や遺伝子発現が変化していることを明らかにし、本研究助成期間中に論文として発表した（Matsumoto et al. 2023）。これらの結果、また上述の動物細胞における報告をあわせ、植物でも細胞核内 AF が存在し、ADF は細胞核内 AF の構造や動態を制御することにより、細胞核内構造の形態、そして遺伝子発現を制御しているのではないかと、この仮説を立てた。本助成研究は、植物細胞核内 AF の可視化系を作り、その構造や機能を明らかにすることを目的として進めた。

細胞核内 AF を可視化するため、AF に結合する Lifeact ペプチド、蛍光タンパク質、細胞核局在シグナル NLS の融合タンパク質を発現するシロイヌナズナを作成した。顕微鏡観察の結果、根の先端部の細胞で、細胞核内に強い蛍光タンパク質の輝点、あるいは繊維状構造が観察されること、その頻度は野生型と比較して *adf* 変異体で高いことがわかった。現在、AF に結合する別のペプチドを用いた可視化系の確立を進め、観察された構造が細胞核内 AF であることを確かめるとともに、DNA 損傷処理を中心に、様々な刺激を与えた際の細胞核内繊維状構造の形態・頻度の変化を解析することにより、植物細胞核内 AF の機能に迫る研究を進めている。

遺伝子発現は、細胞核内における遺伝子の位置や、DNA に結合するヒストンタンパク質の修飾など、様々な要因により制御されている。細胞核内 AF を介した ADF による遺伝子発現制御の仕組みを明らかにするため、遺伝子の細胞核内位置と、ヒストン修飾の 2 点について解析を進めた。残念ながら、遺伝子の細胞核内位置を決定する実験については、実験条件の検討を重ねたもののシグナルが得られず、最終的に断念することとなった。ヒストン修飾については、細胞核内の修飾ヒストン局在パターンにおいて野生型と *adf* 変異体とで違いがあることが明らかになりつつあり、本交歓会でその結果を紹介したい。

【キーワード】 シロイヌナズナ、アクチン繊維、細胞核

【参考文献】

- Inada, N., Higaki, T., and Hasezawa, S. (2016) *Plant Physiology* 170, 1420-1434
- Matsumoto, T., Higaki, T., Takatsuka, H., Kutsuna, N., Ogata, Y., Hasezawa, S., Umeda, M., and **Inada, N.** (2023) *Plant Cell&Physiology* 64, 1231-1242