

Title	Mechanism for vesicle fusion during nuclear envelope assembly in <i>Xenopus</i> egg cellfree system.
Author(s)	尾家, 慶彦
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45116
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	尾 家 慶 彦
博士の専攻分野の名称	博士 (理 学)
学位記番号	第 18042 号
学位授与年月日	平成 15 年 6 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Mechanism for vesicle fusion during nuclear envelope assembly in <i>Xenopus</i> egg cellfree system. (ツメガエル卵無細胞系における核膜再構成時の小胞融合機構)
論文審査委員	(主査) 教授 小倉 明彦 (副査) 教授 滝澤 温彦 教授 田嶋 正二 助教授 井上 明男

論 文 内 容 の 要 旨

高等真核生物細胞では核膜は細胞周期中で崩壊と構築を行なうが、その分子的な機構はほとんどわかっていない。私はアフリカツメガエル卵抽出液を用いて核膜形成時の小胞の融合機構について調べた。まず、核膜形成に必要な膜成分の分離を行ない、染色体結合能を持つ light vesicles (LVs) と染色体結合能を持たない heavy vesicles (HVs) と名付けた 2 種類の小胞分画を精製した。それぞれ単独の小胞分画に上清成分を加えても核膜形成は起こらなかったが、2 種類の小胞を混合した場合には核膜が形成されたことから、LVs が染色体へ結合し、その後 HVs が関与し小胞の融合が起こることがわかった。2 種類の小胞分画は、核膜蛋白質の局在の違いから組成も異なっていると分かった。HVs の性質を調べた結果、塩処理した HVs は LVs の DNA に対する結合を阻害した。この阻害は塩処理で可溶性蛋白質を解離させた HVs が LVs と結合した結果引き起こされていた。この結果から、普段は LVs と HVs の相互作用は HVs 上の可溶性マスク蛋白質で阻害されているが、核膜形成時にはそのマスク蛋白質が HVs から解離して 2 種類の小胞の結合が起こり、その後上清成分が関与して融合反応が起こっていることが考えられる。脱膜精子 DNA に LVs、塩処理してマスク蛋白質を除いた HVs、上清成分の混合物を加えた場合にも核膜形成が起こったことから、このモデルは支持される。

近年、small G protein である Ran の GTP サイクルが核膜形成時の小胞融合に必要であることが示された。しかしながら、Ran がどのように小胞に作用して融合を引き起こしているのかについての研究は行なわれていない。そこで、GTP 型の変異体である RanQ69L と GDP 型の変異体である RanT24N を用いて Ran と小胞との関係について調べた。これらの変異体は、卵抽出液中での核膜形成の膜融合を阻害した。また、卵抽出液中では RanQ69L のみが膜分画と結合していることがわかった。卵抽出液中から上清成分を除いた場合には両変異体ともに膜分画と結合したことから、Ran は GDP 型では上清成分により小胞への結合を阻害されているが、GTP 型になるとそれ自身で小胞へ結合すると考えられる。また変異型 Ran は HVs により強く結合するが両小胞ともに結合した。さらに変異型 Ran と HVs の結合は、HVs を塩処理して得られる可溶性分画により阻害されたことから、その結合は HVs 上の mask 蛋白質と拮抗していることが考えられる。以上の結果から、卵抽出液中に多く存在する Ran-GDP は他の上清成分により小胞との結合を阻害されているが、染色体上に局在する Ran の nucleotide exchange factor である RCC1 によって GTP 型に

変化して染色体の周囲にのみ存在する HVs と結合を行ない、その結果 mask 蛋白質が外れ両小胞の結合が起こると推測される。

論文審査の結果の要旨

尾家慶彦君は、細胞分裂時にいったん分散・小胞化し、分裂終了後に再構築される核膜の動態に着目し、その制御機構について解析を進めた。その結果、ツメガエル卵抽出液中に二種類の小胞分画が存在すること、低比重小胞 (LV) が染色体と結合し、高比重小胞 (HV) が小胞融合を制御すること、HV を塩処理することで解離する蛋白成分 (マスク因子) が LV と HV の相互作用を支配していること、などを見出した。また、生きた細胞内でマスク因子の HV からの解離を促す機構について、RAN の GDP-GTP 交換によるもの仮説を提唱し、RAN の組み換え変異体を用いた実験からこれを支持した。これらの結果は、細胞増殖の基本的な機構の一つを明らかにしたものと見え、理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。