

| | |
|--------------|---|
| Title | 染色体と核膜に結合するBarrier-to-Autointegration Factorの動態の解析 |
| Author(s) | 志見, 剛 |
| Citation | 大阪大学, 2005, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45606 |
| 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 | 志見 剛 ^{たけし} |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(理学) |
| 学位記番号 | 第 19216 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 17 年 3 月 25 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 | 染色体と核膜に結合する Barrier-to-Autointegration Factor の動態の解析 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 原口 徳子 (副査) 教授 平岡 泰 教授 滝澤 温彦 教授 田嶋 正二 |

論文内容の要旨

真核細胞の核は、核膜に包まれた染色体が細胞質から隔てられた状態で存在している。核膜を裏打ちする核ラミナと結合する核膜内膜タンパク質には LEM ドメインを有する emerin ならびに lamina-associated polypeptide 2 β (LAP2 β) がある。10 kDa の DNA 結合タンパク質である barrier-to-autointegration factor (BAF) はこのドメインと結合する。BAF は生物種間で高度に保存されており、細胞分裂ならびに発生に必要不可欠であること、核膜形成時に LEM ドメインタンパク質の核膜構築に関与することが知られている。しかし、核膜形成を制御する BAF の分子機構はまだよく分かっていない。本実験では、間期ならびに分裂期終期における BAF の分子動態を検討した。BAF は、間期では主に核膜に局在しているが、分裂期では細胞質に分散し、分裂期終期の核膜形成時期に短時間、微小管が結合する染色体周縁部付近の領域(「コア領域」)に局在した。次に、Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) 解析によって分子運動の速さを計測すると、間期核膜における GFP-BAF は、GFP-emerin ならびに GFP-LAP2 β の動きより約 200 倍速かった。Fluorescence resonance energy transfer (FRET) 解析から、分子運動が異なる BAF と emerin が核膜で直接相互作用していた。さらに、Fluorescence cross-correlation spectroscopy (FCCS) 解析によって、細胞質、核膜上ならびに核内で BAF 同士の相互作用も観察された。以上の結果から、間期の核膜内膜において、emerin はほぼ動かないが、2量体 BAF を含む複合体は、高速で emerin と結合と解離をくり返すことが分かった(「Touch and Go」モデル)。一方、FRAP 解析の結果、分裂期終期の「コア領域」にある BAF は、間期核膜上の BAF と比較して約 200~400 倍遅く、emerin や LAP2 β の分子運動と同程度であった。さらに FRET 解析から、「コア領域」では BAF 同士は直接相互作用しているが、BAF と emerin は直接相互作用していなかった。このように分裂期終期において 2量体 BAF を含む複合体ならびに emerin は、低速の分子交換を伴いながら「コア領域」に共局在するが、両者は直接相互作用しないことが分かった(「Velcro」モデル)。間期核膜と分裂期終期の「コア領域」ではどちらも 2量体 BAF を含む複合体を形成するが、BAF の分子運動ならびに emerin との相互作用の違いから、核膜と「コア領域」は構造的に異なっていると考えられる。間期の BAF は、核膜上の emerin と染色体間を高速で往復しながら核内構造の維持に関与し、分裂期終期の BAF は分子流動性の低い「コア領域」を形成することによって核膜構築に関与している可能性がある。「コア領域」で BAF と emerin が直接相互作用しないことから、BAF あるいは emerin は分裂期特異的に何らかの修飾を受けているのかもしれない。

論文審査の結果の要旨

申請者 志見剛は、核膜形成の分子機構を解明する一環として、核膜タンパク質の核膜局在化に重要な働きを持つタンパク質である barrier-to-autointegration factor (BAF) の細胞内分子動態を解明した。核膜は、真核生物のゲノム DNA を包む細胞構造であり、ゲノム機能に重要な働きがある。特に核膜内膜には、特徴的なタンパク質が存在し、細胞周期の正常な進行や転写制御、DNA 複製に関与すると考えられている。中でも、核膜タンパク質であるエメリンやラミン A の欠失や変異が、筋ジストロフィーや早老症などを始めとした多く遺伝病を起こすことから、これらの核膜タンパク質の核膜局在化の仕組みを解明することは、生物学は元より医学にも重要な意義を持つ。これまでの研究で、BAF がエメリンの核膜局在化に関与すると考えられていたが、その仕組みは全く解明されていなかった。申請者は、その問題を解決するために、生きた細胞での BAF の分子動態とエメリンとの分子間結合を最新のイメージング法を用いて可視化するという独創的な視点で研究し、BAF 分子が細胞周期の間期と分裂終期で、それぞれ異なる物性を持ち、異なる状態でエメリン分子と結合することを発見した。申請論文の主な業績は、第一に、同期の細胞では、2量体を形成した BAF が自由拡散に近い速さで動き回りながら、エメリンと結合することを示した点であり、第二に、細胞分裂終期では、多量体化した BAF が不動の構造を細胞内特定領域に形成し、間期とは異なる結合状態で存在することを発見した点である。これらの知見は、細胞内の BAF 分子とエメリン分子の結合を時空間的に決定することにより、BAF がエメリン分子を核膜に局在化させる分子機構の一端を明らかにした点で、該当領域に貢献するものである。それに加えてこれらの発見は、生きた細胞内で分子が相互作用するためには、分子濃度だけでなく、分子の「動き易さ」という物理量が重要であることを示しており、分子間結合が濃度依存的に起こるというこれまでの生化学的な捉え方とは異なる新規な概念を導入した点で高く評価できる。

よって、博士(理学)の学位を授与するに値すると認める。