



Title	Identification and functional analysis of plant Aurora kinases in mitosis
Author(s)	栗原, 大輔
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49513
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【9】	
氏名	栗原大輔
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第22900号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科生命先端工学専攻
学位論文名	Identification and functional analysis of plant Aurora kinases in mitosis (細胞分裂期における植物 Aurora キナーゼの同定および機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 福井 希一 (副査) 教授 清水 浩 教授 福崎英一郎 教授 小林 昭雄 教授 大竹 久夫 教授 原島 俊 教授 金谷 茂則 教授 四方 哲也 教授 仁平 阜也 教授 野地 博行

論文内容の要旨

第1章：緒言

細胞分裂は、1つの細胞から2つの娘細胞へと遺伝情報を均等に分配するという、生命の根幹をなす過程である。この細胞分裂期の制御において重要な役割を担っているタンパク質に分裂期キナーゼがあるが、植物においては未だ明らかになっていない。そこで本研究では、植物における分裂期キナーゼを同定し、細胞分裂期における機能を明らかにする事を目的とした。

第2章：植物Auroraキナーゼの同定および局在解析

いくつかの分裂期キナーゼについて、モデル植物である*Arabidopsis thaliana*の全ゲノムを相同性検索したところ、ヒトAurora Aとキナーゼドメインにおいて61-67%の相同性がある3個のAuroraキナーゼ候補遺伝子を同定し*AtAUR1*, *AtAUR2*, *AtAUR3* (*Arabidopsis thaliana Aurora kinase*)と命名した。GFP融合タンパク質をタバコ培養細胞BY-2で発現させて細胞分裂期の動態解析を行ったところ、*AtAUR1*と*AtAUR2*は紡錘体微小管に、*AtAUR3*は動原体に局在が観察され、植物細胞においてもAuroraキナーゼは細胞分裂期に重要な役割を担っている事が示唆された。

第3章：Auroraキナーゼ特異的阻害剤を用いた細胞分裂期における機能解析

Auroraキナーゼ特異的阻害剤ヘスペラジンを、BY-2細胞に添加し観察したところ、間期において微小核と呼ばれる小さい核が多く観察された。また細胞分裂後期において、姉妹染色分体の分離が遅れた遅延染色体が観察された事より、植物においてAuroraキナーゼは染色体分離に関与している事が示唆された。

第4章：ライブセルイメージングによる植物Auroraキナーゼ機能解析

微小管と動原体を同時に可視化したBY-2細胞を用いてヘスペラジン処理後動態観察したところ、前中期において赤道面上へ動原体整列が遅延し、また後期においては2種類の遅延姉妹動原体動態が観察された。以上の結果か

ら、植物Auroraキナーゼは分裂前中期での染色体整列において、異常な動原体-微小管連結の解除、また分裂後期での染色体分離において姉妹染色分体間の接着の解離といった2種類の機能を持つ事が示唆された。

第5章：植物Auroraキナーゼスプライシングバリエントの解析

*AtAUR2*にはキナーゼドメインの一部をコードしている第4エキソンが欠失したスプライシングバリエントを同定し、*AtAUR2 splicing variant (AtAUR2S)*と命名した。*AtAUR2S*は基質へのリン酸化能は欠失していたが、結合能は有していた。*AtAUR2*は細胞分裂活性が高い花や根で高発現している一方、*AtAUR2S*は分裂活性の低い葉や茎で高発現していた事より、*AtAUR2S*は*AtAUR2*を競合阻害する事により細胞分裂を制御している事が示唆された。

第6章：結言

本研究では植物における分裂期キナーゼとしてAuroraキナーゼを同定し、正確に遺伝情報を分配するために染色体整列および染色体分離を制御している事を示した。またAuroraキナーゼ研究を通して、植物の生長および発生過程において細胞分裂制御による新たなメカニズムへの道を開いた。

論文審査の結果の要旨

本論文では、細胞分裂期の制御において重要な役割を担っているタンパク質、分裂期キナーゼを同定し、細胞分裂期における機能を明らかにすることを目的として研究を進めた結果について述べている。分裂期キナーゼは細胞分裂期の制御において重要な役割を担っているタンパク質であるが、植物においてはその機能等の詳細が未だ明らかになつていないものである。

先ず、いくつかの分裂期キナーゼについて、*Arabidopsis thaliana*の全ゲノムを相同性検索し、ヒトAurora Aとキナーゼドメインにおいて61-67%の相同性がある3個のAuroraキナーゼ候補遺伝子を同定し*AtAUR1*, *AtAUR2*, *AtAUR3* (*Arabidopsis thaliana Aurora kinase*)と命名したのである。これらをGFP融合タンパク質をタバコ培養細胞BY-2で発現させて細胞分裂期の動態解析を行ったところ、*AtAUR1*と*AtAUR2*は紡錘体微小管に、*AtAUR3*は動原体に局在が観察されるのである。すなわち植物細胞においてもAuroraキナーゼは細胞分裂期に重要な役割を担っている事が、示唆されるのである。

次に、Auroraキナーゼに対する特異的阻害剤であるヘスペラジンを用いて処理したBY-2細胞を観察するのであるが、間期において微小核を多く観察し、かつ細胞分裂後期において、遅延染色体も同時に観察するのである。すなわち植物においてAuroraキナーゼは染色体分離に関与しているのである。そこで、微小管と動原体を同時に可視化したBY-2細胞を用いてヘスペラジン処理後の細胞動態観察を行うのである。その結果、前中期においては赤道面上へ動原体整列が遅延し、また後期においては2種類の遅延姉妹動原体動態を観察するのである。以上の結果は、植物Auroraキナーゼが分裂前中期での染色体整列において、異常な動原体-微小管連結の解除、また分裂後期での染色体分離において姉妹染色分体間の接着の解離といった2種類の機能を併せ持つ事を明らかにするものである。

さらに、本論文では、*AtAUR2*にはキナーゼドメインの一部をコードしている第4エキソンが欠失したスプライシング

グバリエントを同定し、*AtAUR2* splicing variant (*AtAUR2S*) と命名し、その機能についても幾つかの示唆をするのである。

以上のように、本論文は植物 Aurora キナーゼの機能解明に重要かつ新しい知見を加える事に寄与し、さらには植物染色体工学分野への貢献も期待できる。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。