



Title	Light-dependent nuclear positioning in Arabidopsis thaliana leaf cells : its basic features and motile systems
Author(s)	岩淵, 功誠
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49718
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 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

論文内容の要旨

<背景・目的>

植物の細胞核は光に依存して定位運動する。核光定位運動と呼ばれるこの現象は、1993年にシダ植物で初めて見いだされた。しかし、運動の仕組み、生理学的意義、普遍性などについて、未だ不明な点が多い。私は種子植物であるシロイヌナズナの細胞核が光定位運動することを見いだした。本研究では、シロイヌナズナ葉細胞における核光定位運動の基本的特徴および運動の仕組みについて明らかにすることを目的とした。

<結果・考察>

研究1：核光定位運動の基本的特徴

暗順応した野生型のロゼット葉の表皮細胞、葉肉細胞の核は細胞底面の中央付近に定位していた。一方、葉に100 μmol m⁻² s⁻¹の青色光(470 nm)を照射すると、核は細胞側面(垂層壁)に沿って定位した。核は、50 μmol m⁻² s⁻¹以上の青色光照射によって約2時間以内に細胞側面に定位し、照射終了に続く暗処理によって数時間以内に細胞底面に再定位したことから、核光定位運動は可逆的な反応であることがわかった。青色光受容体であるフォトトロピンを欠損した変異体(phot1、phot2、phot1phot2)を用いて解析を行ったところ、phot1変異体の核は光定位運動を示したのに対し、phot2、phot1phot2変異体の核は光定位運動を示さなかった。一方、phot2変異体にPHOT2遺伝子を導入すると、回復が認められた。以上の結果から、核光定位運動の光受容体はphot2であることが明らかになった。

研究2：核光定位運動の仕組み

核光定位運動に対するアクチン、微小管の関与を調べた。野生型のロゼット葉にラトランキュリンB(アクチン脱重合剤)を与えたところ、表皮細胞、葉肉細胞の核は光定位運動を示さなかった。また、青色光照射終了後、葉にラトランキュリンBを与え、暗黒下に移しても、核は細胞底面に再定位することはなかった。一方、プロピザミド(微小管破壊剤)はいずれの定位運動にも影響を及ぼさなかった。以上の結果から、核光定位運動はアクチン細胞骨格に依存していることが示唆された。そこで、細胞内におけるアクチンの構築様式を調べるため、独自に免疫染色法を確立した。暗黒下では、表皮細胞の核は、細胞の長軸方向に沿って配向した太いアクチン繊維束と細胞底面でインタラクトしていた。一方、青色光下では、核とインタラクトしたアクチン繊維束が核とともに細胞側面に沿って配向した。このようなアクチン繊維束の構築変化はphot1変異体では正常にみられたのに対し、phot2、phot1phot2変異体ではみられなかったことから、青色光に依存したアクチン繊維束の構築変化はphot2により制御されることがわかった。

<今後の展望>

現在、緑色蛍光タンパク質であるGFPにヒストンH2Bを融合させたH2B-GFPや、赤色蛍光タンパク質であるtdTomatoにアクチン結合タンパク質フィンプリンのアクチン結合ドメインを融合させたABD2-tdTomatoを発現する形質転換体を用いて、生細胞における核やアクチンの動態を解析している。また、核光定位運動の生理学的意義についても解析を始めている。核の定位場所と紫外線や青色光照射によって生じるDNA損傷との関係を明らかにするため、DNA損傷の定量化を試みている。

論文審査の結果の要旨

岩渕功誠君は、細胞核が光条件の変化に従って細胞内での存在場所を変える現象を、種子植物で初めて発見した。シロイヌナズナを用いて詳細な光生物学的解析を行ない、明暗条件によって可逆的にひき起こされること、強光域の青色光によって特異的にひき起こされること、さらに光受容体が、葉緑体の強光逃避運動の調節にも関わるフォトトロピン2であることを明らかにした。核の運動機構としてアクチン細胞骨格に注目し、阻害剤実験および間接蛍光抗体法によるアクチンの可視化に取り組んだ。葉表皮細胞を抗体染色する技術を開発し、フォトトロピン2を介してひき起こされるアクチン

【52】

氏名	岩 渕 功 誠
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 22686 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 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Light-dependent nuclear positioning in <i>Arabidopsis thaliana</i> leaf cells : its basic features and motile systems (シロイヌナズナ葉細胞における核光定位運動：基本的特徴と運動の仕組み)
論文審査委員	(主査) 教授 柿本 辰男 (副査) 教授 小倉 明彦 准教授 高木 慎吾

繊維束の特徴的な構築変化によって核の光定位がもたらされる可能性を提示した。

現象の仕組みおよび意義に迫るため、核蛋白質であるヒストンと蛍光蛋白質との融合蛋白質を発現する形質転換体を用いた核光定位運動のリアルタイム解析およびDNA損傷の定量的解析にも既に着手しており、今後の発展が期待される。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。