

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20770028  
 研究課題名（和文） タンパク質キナーゼ I B O 1 による細胞形態の調節機構  
 研究課題名（英文） Regulation of cell morphology by a protein kinase IB01  
 研究代表者  
 本瀬 宏康（MOTOSE HIROYASU）  
 岡山大学・大学院自然科学研究科・助教  
 研究者番号：70342863

研究成果の概要（和文）：NIMA 関連キナーゼ（NEK）は、真核生物に広く保存されているタンパク質リン酸化酵素で、細胞分裂の調節に関わっている。本研究では、シロイヌナズナの NEK6 が細胞の伸長方向を調節すること、NEK6 が NEK4 や微小管結合タンパク質と協調して微小管構造を制御し、方向性をもった細胞成長を調節することが示された。

研究成果の概要（英文）：NIMA-related kinases (NEKs) are a family of mitotic protein kinases conserved in eukaryotes. This study revealed that Arabidopsis NEK6 cooperates with NEK4 and microtubule-associated proteins to regulate directional cell growth through microtubule function.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学 植物分子生物・生理学

キーワード：細胞極性、細胞伸長、タンパク質キナーゼ、リン酸化、微小管、シロイヌナズナ、植物細胞

## 1. 研究開始当初の背景

NIMA関連キナーゼ（NEK）は、真核生物に広く保存されたタンパク質リン酸化酵素である。最初に発見されたNEKは、*Aspergillus*

*nidulans* のNever in mitosis A (NimA)であり、NimAは細胞分裂期の開始や進行に必要であることが示された。その後の解析により、NimAとよく似たキナーゼドメインをもつタン

パク質が動物、菌類、植物において発見され、NimA-related kinase (NEK)ファミリーと呼ばれている。動物の研究から、NEKは中心体の分離や紡錘体の形成に必要であることが明らかになっているが、植物のNEKの機能はほとんどわかっていない。本瀬ら (Plant J. 2008) の研究から、シロイヌナズナのNEK6が細胞の伸長方向を調節することが初めて明らかになり、植物ではNEKの機能が細胞伸長制御へと多様化していることが示唆された。本研究では、NEK6を中心に据えたシロイヌナズナNEKファミリーの機能解析を行い、植物細胞の成長制御の新たな側面を明らかにすることを目指した。

## 2. 研究の目的

本研究ではシロイヌナズナNEKファミリーの機能を解明し、植物細胞の成長極性の新奇な制御機構、および、細胞分裂と細胞伸長の協調機構を明らかにすることを目的とした。また、NEKファミリーのメンバー間での相互作用、機能的重複、機能の多様化と分担についても検討を加え、植物の発生過程におけるNEKファミリーの役割や、進化におけるNEK機能の多様化を示す。

## 3. 研究の方法

シロイヌナズナのNIMA関連キナーゼ (NEK1-NEK7) 遺伝子をクローニングし、NEKファミリーの発現パターンや細胞内局在を解析した。*nek1-nek7*変異体を単離し、多重変異体を作成した。微小管結合タンパク質を用いた *in vitro* キナーゼアッセイ、変異体における微小管のライブセルイメージング、細胞内動態の詳細な解析、微小管関連変異体との遺伝的相互作用、阻害剤の効果の解析を行った。

## 4. 研究成果

NEKファミリーの発現と局在の解析により、NEKファミリーが分裂組織や伸長領域で蓄積すること、フラグモプラストや表層微小管に沿ってダイナミックな挙動を示す顆粒状構造に濃縮されることを見出した。キナーゼアッセイと微小管のライブセルイメージングにより、NEK6は微小管結合タンパク質をリン酸化し、表層微小管配向の均質性を保つことが示唆された。NEK6は微小管結合タンパク質のSPR2, GCP2, ARKキネシンと遺伝的相互作用を示し、特にARKキネシンがNEK6の活性と局在に必要であることが示唆された。また、NEK6は他のNEKファミリーメンバーと相互作用して働くことを示した。特に、NEK6とNEK4の機能的相互作用が細胞伸長の方向制御に重要であることがわかった。これらの結果から、NEK6がNEK4や微小管結合タンパク質と協調して微小管構造を制御し、方向性をもった細胞成長に関与することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

- ① Motose, H., Iwamoto, K., Endo, S., Demura, T., Sakagami, Y., Matsubayashi, Y., Moore, K. L., and Fukuda, H. (2009) Involvement of phytosulfokine in the attenuation of stress response during the transdifferentiation of zinnia mesophyll cells into tracheary elements. *Plant Physiology* 150, 437-447. (査読有)
- ② Kumakura, N., Takeda, A., Fujioka, Y., Motose, H., Takano, R., Watanabe, Y. (2009) SGS3 and RDR6 interact and colocalize in cytoplasmic SGS3/RDR6-bodies. *FEBS*

Letters 583, 1261-1266. (査読有)

③ Tagami, Y., Motose, H., and Watanabe, Y. (2009) A dominant mutation in DCL1 suppresses the hyl1 mutant phenotype by promoting the processing of miRNA. *RNA* 15:450-458. (査読有)

④ Motose, H., Tominaga, R., Wada, T., Sugiyama, M., and Watanabe, Y. (2008) A NIMA-related protein kinase suppresses ectopic outgrowth of epidermal cells through its kinase activity and the association with microtubules. *Plant Journal* 58, 829-844. (査読有)

[学会発表] (計0件)

① 本瀬宏康、NIMA 関連キナーゼは相互作用し、微小管機能を介して細胞成長方向を制御する、第51回日本植物生理学会、2010年3月19日、熊本

② Hiroyasu Motose, Function of NimA-related protein kinases in Arabidopsis. 20th International Conference on Arabidopsis Research., July 2 2009, Edinburgh, UK

③ 本瀬宏康、シロイヌナズナ NIMA カイネースの機能、第50回日本植物生理学会、2009年3月21日、名古屋

④ Hiroyasu Motose, A NIMA-related protein kinase suppresses ectopic outgrowth of epidermal cells through its kinase activity and the association with microtubules. 19th International Conference on Arabidopsis Research., July 25 2008, Montreal, Canada

⑤ 本瀬宏康、シロイヌナズナ NIMA カイネースの機能解析、第31回日本分子生物学会(日本生化学会合同大会)、2008年12月10日、神戸

[図書] (計0件)

① 本瀬宏康、渡辺雄一郎、箸本春樹、他、東京大学出版会 図説生物学 2010 112-143

② 本瀬宏康、渡辺雄一郎 羊土社 分子生物学イラストレイテッド第3版 植物バイオ

テクノロジーと遺伝子組換え食品、2009、335-341

③ 本瀬宏康、他、東京大学出版会、基礎生命科学実験、2009、102-110.

[産業財産権]

特になし

[その他]

ホームページ等

<http://www15.atwiki.jp/motosehiroyasu/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

本瀬 宏康 (MOTOSE HIROYASU)

岡山大学・大学院自然科学研究科・助教  
研究者番号：70342863