

# 細胞伸長制御機構における蛋白質 蛋白質相互作用の解明

●キム キョンテ

岡崎国立共同研究機構総合バイオサイエンスセンター

## 研究の目的と進め方

本研究では、多細胞生物の形を左右する新たな細胞極性伸長制御機構、すなわち蛋白質の相互作用を通じた制御機構の解明を目的とする。

これまでの研究は、AN 遺伝子産物の機能解析およびその標的タンパク質の探索を中心に行なった。その結果、蛋白質の相互作用に重要な役割をしている AN 蛋白質のホモダイマー形成や相互作用を制御する C 末端ドメインの配列の決定等の成果を上げてきた。今年度の研究では、上記のこれまでの研究成果を生かしつつ、分子遺伝学的及び生化学的アプローチという広範囲にわたる視点から、さらなる研究の発展をめざすのが特色の一つである。さらに不明のままである細胞レベルでの制御という観点およびその制御の発生進化的アプローチという観点を加えることで、新たな遺伝的制御機構を解明と同時に、きわめて独創性の高い成果を上げるものと期待できる。

## 2001 年度の研究の当初計画

平成 14 年度においては、平成 12 年度からの研究成果を最大限活かし、AN 遺伝子産物の機能解析およびその標的タンパク質の探索を中心に、以下の 4 つの戦略により細胞極性伸長に関する新規の遺伝学的制御系の解明を行なう。

(1) two-hybrid システムおよび複合体の精製による相互作用するタンパクの同定。(2) AN 遺伝子の標的遺伝子および下流調節因子の単離と解析。(3) 二重変異体の作成、解析による相互作用因子のスクリーニング。(4) 多細胞生物における蛋白質相互作用に関する共通的な機能の解析。

## 2001 年度の成果

AN::GFP 融合蛋白質の作成とその細胞内の局在解析、two-hybrid 解析用のライブラリの作成、およびマイクロアレー解析による標的遺伝子および下流調節因子の単離などが済んでいる。予想される標的遺伝子のうち、zinc-finger protein, bHLH のような転写因子および fimbrin-like protein などの actin 制御因子については、現在それらのトランスジェニック植物を作成し、機能解析を行なっている。また研究計画のうち、蛋白-蛋白相互作用に重要な役割を果たす AN 蛋白質のホモダイマー形成を調べた結果、AN 蛋白質は単独ではなくホモダイマー形成し、他の蛋白質と結合することが明らかになった。未知の AN 蛋白質の C 末端の配列がホモダイマー形成に必須であることが判明し、新たな制御システムの解明が期待される。また、AN 蛋白質の tran-

scriptional co-repressor としての機能を知るため、E1A subunit との蛋白質の相互作用を調べている。さらに、多細胞生物における蛋白質相互作用に関する共通的な機能の解析のため、朝顔、ゼニゴケ、ヒメツリガネゴケから AN 遺伝子のホモログ遺伝子の単離に成功し、その機能の解析を進めている。以上の成果の一部をまとめ、論文報告済みである (Kim et al. EMBO J.)。

## 国内外での成果の位置づけ

上述の通り申請者はすでに、葉の形態を司る極性軸としての縦と横の制御について、一貫して世界に先駆けた成果をあげてきた。本研究で解明を目指す「蛋白質-蛋白質相互作用による細胞極性伸長機構」という発想は、申請者らの研究があつて初めてもたらされたものであり、また世界的に注目されているが、まだ未知である多細胞生物における細胞伸長制御機構の理解にもつながるものと期待できる。さらに、発生進化的アプローチという観点を加えることで新たな遺伝的制御機構を解明に大いに役立つものと期待できる。なお本研究成果は、国内セミナー(第 7 回若手研究者セミナー、岩手生工研；高等植物の研究最前線、京都大学)だけでなく複数の国際会議 (ISPMB, POSTECH Symposium, Arabidopsis Meeting) にも講演招待を受けるなど、世界的にも注目されている。

## 達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

研究計画のうち、two-hybrid 解析による新たな相互作用因子の単離はまだ成功していない。その理由として上述のように、蛋白-蛋白相互作用において AN 蛋白質のホモダイマー形成や C 末端の配列の重要性が考えられる。この C 末端の配列は植物特異的な配列であり、遺伝学的な解析および生化学的 approach を行なうことで、そのドメインの機能の解明と同時に植物特有な遺伝的制御機構を解明につながるものと期待している。

## 今後の課題

これまでの研究で、細胞レベルおよび遺伝学的解析により細胞伸長制御機構の一部が解明された。今後は、これまでの成果を活かしつつ、分子遺伝学的及び生化学的アプローチという広範囲にわたる視点から、総合的なメカニズムの解明をめざす。特に、発生進化的アプローチという観点を取り入れ、多細胞生物における蛋白質相互作用に関する共通的な機能の解明が必須である。

## 成果公表リスト

- G.-T. Kim, K. Shoda, T. Tsuge, K.-H. Cho, H. Uchimiya, R. Yokoyama, K. Nishitani and H.: The *ANGUSTIFOLIA* gene of *Arabidopsis*, a plant *CtBP* gene, regulates leaf-cell expansion, the arrangement of cortical microtubules in leaf cells and expression of a gene involved in cell-wall formation (EMBO J. 2002. 21 (6), in press).

