

論文審査の結果の要旨

氏名 湖城 恵

本論文はバイオイメージング技術を駆使し、高等植物の細胞分裂における表層アクチン繊維パターンの役割の検討について述べられている。

高等植物の細胞分裂面決定では、細胞骨格である微小管とアクチン繊維の重要性が知られている。細胞膜直下に存在する表層微小管は分裂期直前になると細胞中央部に集積され、環状の構造 (preprophase band: PPB) を形成する。また、分裂中期のアクチン繊維は actin microfilament twin peaks (MFTP) と呼ばれる特徴的な表層アクチン繊維パターンを形成する。しかし、高等植物の細胞分裂面決定における MFTP の役割はほとんどわかっていないのが現状であった。

学位申請者は、GFP-tubulin により微小管が可視化されたタバコ BY-2 の形質転換細胞である BY-GT 細胞を用いて、アクチン阻害剤である TIBA および jasplakinolide を処理した場合には、PPB の幅に顕著な変化は観察されないことを明らかにした。一方、GFP-ABD2 によりアクチン繊維が可視化された BY-GF 細胞を用いて、分裂期のアクチン繊維に対する TIBA および jasplakinolide の影響を検証した結果、表層のアクチン繊維の分布が変化することを新たに見出した。コントロールである DMSO を処理した場合には 90%以上の細胞で MFTP が形成されるのに対し、TIBA を処理した場合、約 37%の細胞表層で中央部に 1 つのアクチン繊維の局在ピークが観察され、jasplakinolide を処理した場合、約 32%の細胞の表層で 3 つの帯状の表層アクチン繊維パターンが形成されることを報告した。以上の結果から、TIBA および jasplakinolide を処理した場合、PPB の成熟阻害を伴うことなく、表層アクチン繊維パターンを変化できることが示唆された。そのため学位申請者は、MFTP の細胞分裂面決定への関与を調べるため、TIBA および jasplakinolide を処理した場合の細胞分裂面を検証した。細胞の短軸方向に対し、挿入された細胞板が 10 度以上傾斜した細胞の割合を計測した結果、アクチン重合阻害剤を処理した場合と同様に、TIBA および jasplakinolide を処理した場合にも傾いた細胞板が高頻度に観察されることを報告した。学位申請者が行なったこれら一連の研究結果により、表層アクチン繊維パターンが正常な細胞分裂面の形成に重要であることが示唆された。

続いて学位申請者は、MFTP と紡錘体の関係を検証するため、分裂中期における微小管とアクチン繊維の 2 重可視化を試みた。YFP-tubulin により微小管が、RFP-ABD2 によりアクチン繊維が可視化された BY-YTRF 細胞に DMSO を処理した場合、細胞長軸方向に垂直な赤道面を持つ紡錘体が高頻度で観察されたのに対し、TIBA および jasplakinolide を処理した結果、表層アクチン繊維パターンが変化した細胞において、傾斜した紡錘体が高頻度で観察されることを報告した。加えて、TIBA および jasplakinolide

を処理した細胞であっても MFTP を持つ細胞であれば傾斜した紡錘体は観察されず、同様に、コントロールである DMSO を処理した場合でも表層アクチン繊維パターンが変化した細胞が低頻度に観察され、そのような細胞では紡錘体が傾斜していることを示した結果、表層アクチン繊維パターンの変化と紡錘体の傾斜が高度に相関することを報告した。学位申請者のこれらの研究結果から、MFTP は紡錘体の方向性を制御することが示された。

なお、本論文は、桧垣匠、朽名夏磨、吉田裕弥、安原裕紀、馳澤盛一郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

総括として、本論文は高等植物の細胞分裂における表層アクチン繊維の役割を示した点で価値があり、学位申請者の学識に関しても博士の学位に十分と判断された。したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1703 字