

M/G1 境界期における表層微小管配向再形成過程の解析および新規モデルの構築

2016年3月修了 先端生命科学専攻 植物全能性制御システム解析学分野 47-146319 佐野 行己

指導教員 馳澤 盛一郎 教授

【序論】

植物体は堅固な植物細胞が規則正しく積み重なることで成り立っている。そのため、個々の細胞が規定通りに形作られることが極めて重要である。植物細胞の形態は細胞壁の物性によって左右されるが、その物性は表層微小管が制御している。生長が盛んな細胞の表層微小管は、細胞分裂後、伸長方向すなわち細胞長軸に対して垂直に配向し、その配向に沿ってセルロース微繊維が合成される。そして植物細胞が吸水すると、セルロース微繊維がタガとして働き、繊維の配向と垂直方向に細胞が伸長する。このように、配向の雛型である表層微小管は植物細胞の形態形成の根本を担っているが、表層微小管自体の配向形成メカニズムは解っていない。表層微小管配向の研究には、顕微鏡観察とシミュレーションによる数値実験が併用されている。表層微小管は伸長収縮の速度が一定であり、表層微小管同士で束化や交差、あるいはカタストロフと呼ばれる脱重合への転換などの相互作用を起こす。この特徴を計算機上で模倣し、配向形成のメカニズムが探索されてきた。現在、配向形成には表層微小管同士の相互作用に加え、細胞端部で起きるカタストロフが重要であると考えられている。表層微小管が細胞端部を通過するには急激に伸長方向を変えなければならないが、多くの表層微小管は対応できずにカタストロフを起こすと考えられた。そして細胞長軸に垂直ではない表層微小管は細胞端部に衝突し、カタストロフして淘汰され、垂直な配向が生じるというモデルである。しかしこれは推論の域を出ず、実際の観察に基づいた実証が必要である。本研究では観察が容易なタバコ BY-2 細胞を用いて表層微小管の配向形成過程や細胞端部でのカタストロフを観察し、その結果を踏まえて考案した仮説を検証することで、より現実に即した配向形成の新規モデルの構築を試みた。

【キーワード】

表層微小管 M/G1 境界期 カタストロフ BY-2 細胞

【結果と考察】

長軸に垂直な表層微小管は細胞端部近傍に現れなかった

細胞端部での表層微小管のカタストロフが、細胞長軸に対して垂直な配向を形成するならば、細胞端部近傍の表層微小管は優位に垂直に配向すると考えられた。これを確かめるため、微小管構造が可視化された BY-GT16 細胞を細胞分裂終了から 120 分間に渡り観察したが、多くの細胞で細胞端部近傍には垂直に配向した表層微小管は見られなかった (図 1)。つまり従来のモデルと異なり、実際には表層微小管は、細胞端部でのカタストロフ以外の要素で垂直に配向することが示唆された。

細胞端部近傍ではカタストロフ頻度が高かった

「細胞端部での表層微小管のカタストロフが、垂直な配向を形成する主要な要素である」という仮説に検討を加え

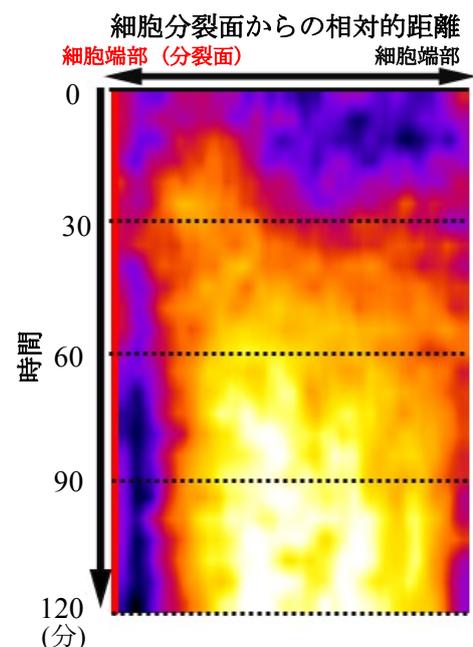


図 1. 細胞分裂後の表層微小管の配向形成過程を示す分布図。左端が細胞分裂面側の細胞端部を示す。明色は細胞長軸に対して垂直な微小管が、暗色は平行な微小管が分布する部位を表す。

る基礎として BY-GT16 細胞の端部を観察したところ、そこに向かって伸長する表層微小管が多数見られ、カタストロフの確率は 90.2% に達した。さらにカタストロフが細胞端部によるものであるかを確認するため、細胞端部から 10 μm 、20 μm 、30 μm の区画でカタストロフの頻度を比較した。その結果、細胞端部から 0-10 μm までの区画でのカタストロフの頻度は $1.76 \pm 0.86 \times 10^{-2}$ 回/分/ μm^2 であったのに対し、10-20 μm 、20-30 μm の区画での頻度はそれぞれ $1.16 \pm 0.77 \times 10^{-2}$ 回/分/ μm^2 と $1.10 \pm 0.86 \times 10^{-2}$ 回/分/ μm^2 であり、0-10 μm の区画は他区画に対し有意に頻度が高かった (図 2)。

表層微小管初期位置の偏在で垂直な配向が形成された

細胞長軸に対して垂直な表層微小管は、細胞分裂面側から細胞中央部へと分布を広げることが明らかとなった。この分布の推移は、細胞分裂後の細胞核の移動の軌跡とよく一致するため、細胞核の存在が配向形成に及ぼす影響を調べた。細胞核は細胞分裂後、短時間ではあるが微小管形成中心 (MTOC)として働くため、その位置は表層微小管の初期位置を細胞分裂面側に偏在させることになる。表層微小管と細胞核の周囲の微小管の分布を経時的に観察したところ、細胞核周辺から表層へ、微小管に由来する蛍光輝度の移行が見られた。また細胞核による表層微小管の初期位置の偏在をシミュレーションに適用したところ、細胞端部でのカタストロフの有無に関わらず垂直な配向が形成された (図 3)。

【総括】

表層微小管は植物の形態形成を根本から司る重要な細胞骨格構造であり、その配向メカニズムについても多くの仮説がある。本研究では観察から得られたデータを解析し、表層微小管の配向形成のタイムスケールや分布推移を定量的に把握した (図 4)。また、それらを基に配向形成の主要メカニズムとして広く認知されている「細胞端部での表層微小管のカタストロフが、垂直な配向を形成する主要な要素である」という仮説を再考し、それに代わり「表層微小管の初期位置の偏在」という要素をシミュレーションで検証した。このシミュレーションの結果は従来のモデルよりも観察結果に近く、実際の表層微小管配向形成を反映していると考えられる。初期位置の偏在による配向形成は、細胞端部でのカタストロフよりも早く垂直な配向を形成し、細胞の速やかな生長に寄与すると推測される。

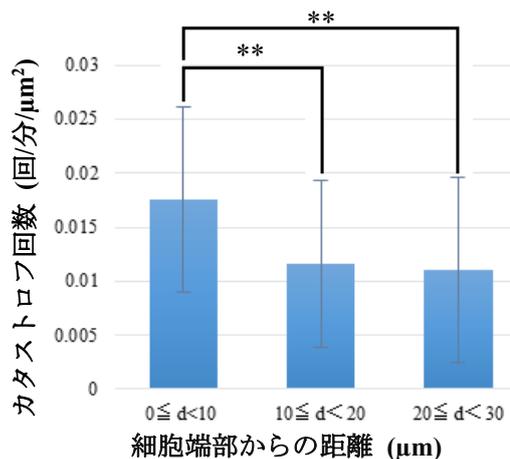


図 2. 細胞端部からの距離とカタストロフ頻度の関係。0-10 μm で 108 回、10-20 μm で 71 回、20-30 μm で 49 回カタストロフを観測した (two-tailed Student's *t*-test: ** $p < 0.01$)。

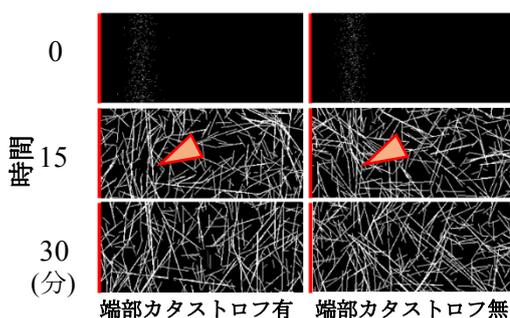


図 3. 初期位置を偏在させた場合のカタストロフの有無による配向形成のシミュレーション結果。各図とも左端が細胞分裂面側の細胞端部、矢頭は垂直な配向の表層微小管群が形成されたことを示す。

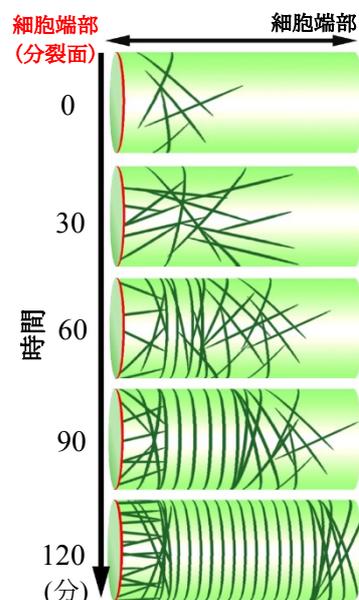


図 4. 表層微小管配向形成の過程の模式図。左端が細胞分裂面側の細胞端部を示す。