

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 ヒメツリガネゴケにおける誘導型 RNAi 系の確立  
および微小管生成因子の機能解析

氏 名 中岡 由貴

## 論 文 内 容 の 要 旨

細胞骨格である微小管は細胞の伸長方向の制御や先端成長、細胞内の物質輸送、細胞分裂などに必須の役割を果たしている。細胞内において微小管の動態は非常にダイナミックであり、生成や消失を繰り返している。微小管生成に関わる因子の欠損は多くの場合致死性の表現型を示すが、微小管生成様式は細胞型や生物種により異なることが知られている。100 年以上前に中心体が発見されて以来、長い間中心体が微小管を中心的に形成している考えられてきた。しかしながら、最近の研究から、中心体非依存的に生成される微小管の重要性が明らかになりつつある。にもかかわらず、その解析は一部の細胞型に限定されている。

そこで、進化の過程で中心体を失ったと考えられている陸上植物における微小管生成機構の解明を目指した。そのためには、①微小管生成に関わることが予想される因子の機能阻害、②微小管生成過程の詳細な観察、の 2 つのアプローチを併用することが必要であると考えた。そこでまず、高解像度での生細胞観察が比較的容易なヒメツリガネゴケに着目し、誘導型 RNA 干渉 (RNA interference; RNAi) 系を確立した。

次に、確立した系を用いていくつかの微小管関連因子の発現を抑制し、細胞分裂期の微小管生成に与える影響を調べた。3 次元でのタイムラプス観察から、オーグミンタンパク質複合体および微小管重合核形成因子である  $\gamma$ -tubulin 複合体 ( $\gamma$ -tubulin ring complex;  $\gamma$ -TuRC) サブユニットのノックダウンにより、スピンドルおよびフラグモプラストの微小管増加がほぼ完全に抑制された。また、オーグミンのノックダウンにより  $\gamma$ -tubulin のスピンドル局在が減少したことから、分裂期において新規に生成される大部分の微小管は、オーグミンが  $\gamma$ -TuRC を既存の微小管上にリクルートして生成されることが示唆された。

さらに、間期における微小管生成機構を調べた。微小管一本一本の動態を観察できる斜光照明蛍光顕微鏡法を導入し、細胞表層付近で微小管が生成される過程を観察したところ、分裂期とは異なり、既知の微小管上からの生成だけではなく細胞質内のさまざまな場所からも生成されることがわかった。微小管が生成される際、大部分の微小管は  $\gamma$ -tubulin の微小管末端への局在が確認できたが、興味深いことに、一部の微小管については  $\gamma$ -tubulin との共局在が認められなかった。また、 $\gamma$ -tubulin をノックダウンした細胞においても、全体の微小管量や生成頻度に差は認められなかったことから、間期には  $\gamma$ -tubulin 以外の何らかの微小管生成機構が存在することも示唆された。本研究から、ヒメツリガネゴケ原糸体細胞では分裂期と間期で異なった機構により微小管を生成することで、適切な場所で適切な量の微小管を形成している可能性が示唆された。