

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 中岡 由貴

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

論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教授 博士(理学)	五島 剛太
委 員	名古屋大学遺伝子実験施設	教授 理学博士	杉田 護
委 員	名古屋大学生物機能開発利用研究センター	教授 博士(医学)	日比 正彦

論文審査の結果の要旨

微小管は細胞分裂や細胞の成長、極性の決定などに必須の役割を果たす。近年、動物細胞において主要な微小管形成中心である中心体に依存しない微小管生成の重要性が示されたが、その生成機構の理解は一部の細胞型に限定されている。植物細胞は中心体を持たず、すべての微小管が中心体非依存的に生成される。しかしながら、その微小管生成機構は間期に形成される表層微小管を除き、ほとんど解明されていなかった。

本研究ではまず、ヒメツリガネゴケにおいて誘導型 RNAi 系を開発した。シロイヌナズナですでに確立されていた XVE エストロゲン誘導系を導入することで、培地に β -エストラジオールを添加するだけで dsRNA を誘導的に発現できた。これにより、任意の遺伝子の機能を時期特異的に抑制する方法が確立した。

分裂期においてヒメツリガネゴケは分裂装置であるスピンドルおよびフラグモプラストを形成する。これらの分裂装置は微小管を主要な構成成分としており、染色体分離や細胞板形成の足場として機能する。そこで、確立した RNAi 系を用いて分裂期の微小管生成機構を調べた。いくつかの微小管生成因子候補を標的とした RNAi 株を作製し、分裂期の観察を行った。その結果、オーグミンおよび微小管重合核形成因子 γ -tubulin 複合体のノックダウンにより、分裂装置の微小管増加が抑制され、一部の細胞では正常なフラグモプラストの拡大が起こらず、分裂が完了しないことを見出した。さらに、オーグミンをノックダウンした細胞の中期スピンドルでは、 γ -tubulin の局在が減少した。これらのことから、分裂期の植物細胞においてオーグミンが γ -tubulin をスピンドル上にリクルートすることで微小管を生成していることが強く示唆された。

さらに、間期の微小管生成機構を調べた。これまでの研究から、表層微小管が微小管の枝分かれにより生成されることが示されていた。しかしながら、植物体には表層微小管以外の微小管(例えば原形質微小管)を形成する細胞も存在する。そこで、ヒメツリガネゴケ原糸体細胞を用いて原形質微小管の生成機構を調べた。斜光照明蛍光顕微鏡法を用いた詳細な観察により、多くの原形質微小管は細胞質から既存の微小管を介さずに生成されることが示された。 γ -Tubulin の局在を観察したところ、ほとんどの生成箇所に γ -tubulin-Citrine のシグナルが認められたが、一部の微小管については γ -tubulin-Citrine のシグナルが認められなかった。さらに、 γ -tubulin をノックダウンした細胞の微小管生成頻度に差が認められなかったことから、 γ -tubulin に依存しない未知の微小管生成機構の存在も示唆された。

以上のように、申請者はヒメツリガネゴケ原糸体細胞では分裂期と間期で異なる機構により微小管が生成されていることを解明し、植物細胞生物学分野において重要な貢献を果たした。よって、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認める。