

# 博士論文審査報告書

氏名	藪内 隆俊 (ヤブウチ タカシ)
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	論博理第18号
学位授与報告番号	乙第52号
学位授与年月日	平成27年9月28日
学位授与の要件	学位規則第4条2項該当
論文題目	タマネギ根端分裂細胞の分裂準備帯形成過程における 微小管と RanGAP の挙動に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 峰雪 芳宣 (副査) 教授 西谷 秀男 (副査) 教授 舘野 賢 (副査) 教授 唐原 一郎 (富山大学大学院理工学研究部、教授)

## 1. 論文内容の要旨

植物の細胞分裂面挿入位置の決定には分裂準備帯 (PPB) が重要な役割をしている。PPB は幅の広い微小管帯として出現し、前期の間に微小管帯の幅が狭くなり、最終的に微小管が 2~4  $\mu\text{m}$  幅の領域に並ぶ。この領域は表層分裂面挿入予定域(CDZ)と呼ばれている。前中期になると PPB は消失するが、PPB に集まった幾つかの分子は CDZ に留まり、これらの分子が分裂の最後で細胞板を CDZ に誘導するのに関与していると考えられている。しかし、これらの分子が PPB 形成のどの時期に蓄積されるのかほとんど分かっていなかった。そこで申請者は、CDZ に蓄積され微小管消失後も CDZ に留まると考えられている分子の一つ RanGAP に注目し、G2 期から前期で進行する PPB の微小管帯形成過程が詳しく調べられているタマネギ根端分裂組織を使って、PPB 形成過程における RanGAP の挙動を調べた。本論文では、まずタマネギの RanGAP 遺伝子を単離し、その情報をもとにタマネギ RanGAP に特異的な抗体を作製した。この抗体と抗チューブリン抗体による 2 重免疫蛍光抗体染色と、DNA の蛍光染色とを併用することにより、RanGAP 帯形成過程と、PPB の微小管帯形成過程と、核周期の進行過程を比較した。その結果、RanGAP 帯は微小管帯が~7  $\mu\text{m}$  程度になった時期に~7  $\mu\text{m}$  幅の帯として微小管帯よりも細胞質側に出現し、前期核の染色体凝縮の進行とともに RanGAP 帯も徐々に狭くなりながら表層へ移動し、CDZ に局在するようになることを明らかにした。また、薬剤を使って微小管帯の形態を変化させた時の RanGAP 帯の観察からも、

RanGAP 帯の形成過程は微小管帯形成とは独立に進行していることが示唆された。次に、タマネギ根端分裂組織の PPB 形成を同調的に誘導し、適当な時期にシクロヘキシミド処理すると、核周期の進行は前期のある時期で阻害されるが、微小管帯形成はそのまま進行することを見つけ、この条件下での RanGAP 帯の挙動についても調べた。これらの観察から、RanGAP 帯が狭くなる過程は微小管に依存していないことを明らかにした。

## 2. 論文審査結果

細胞分裂の時に、どの位置に細胞分裂面が挿入されたかで、将来の細胞の運命が決まることもあり、細胞分裂面の挿入位置の制御機構の解明は発生生物学の重要な課題の一つである。植物細胞では、この分裂面挿入位置は核分裂の前に決まっており、その場所に PPB が出現することが知られている。PPB の主構成要素である微小管は、細胞分裂の前期から前中期に移行する時に PPB のあった細胞表層の領域 (CDZ) から消失する。しかし、植物細胞はこの CDZ を認識し、細胞分裂の最後に出現する細胞板はこの CDZ で親の細胞壁と接着する。そのため、PPB のあった位置になんらかのメモリーが残されていると考えられていた。この 10 年の分子生物学的研究により、このメモリーの候補となる分子が幾つか明らかになったが、これらの分子がいつ、どのようにして CDZ に集まるのか、全く分かっていなかった。本論文では、染色体が太く、前期の核の状態が細胞学的に幾つかの過程に区別できるタマネギ根端分裂組織を使うことで、CDZ に蓄積される分子 RanGAP の帯形成を開始する時期を明らかにし、RanGAP 帯形成過程が微小管に依存していないことを示唆する実験データを得ることに成功した。この結果は CDZ を構成する分子がいつ CDZ に集まるのかを明らかにした最初の報告である。また、PPB 形成を同調的に誘導した根端分裂組織の適当な時期にシクロヘキシミド処理を行うことで、核周期進行を阻害しても微小管帯形成はそのまま進行する実験系を確立し、この系を使って RanGAP 帯形成過程が微小管に依存していないという考えを支持するデータを示した。この核周期の進行と微小管帯形成の進行を部分的に脱共役できる実験系は、今後の PPB 形成と核周期進行との関係を調べる研究に貢献することが期待できるものである。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 27 年 7 月 22 日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判断した。