

Title	Structure and function of the phragmoplast
Author(s)	柿本, 辰男
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3086255">https://doi.org/10.11501/3086255</a>
DOI	10.11501/3086255
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	柿 本 辰 男
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 9 9 1 1 号
学位授与年月日	平 成 3 年 10 月 5 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Structure and function of the phragmoplast (フラグモプラスト (隔膜形成体) の構造と機能)
論文審査委員	(主査) 教 授 柴 岡 弘 郎 (副査) 教 授 松 原 央 教 授 永 井 玲 子

### 論 文 内 容 の 要 旨

高等植物における細胞質分裂は、核分裂の後、二つの娘核の間に新しい細胞壁（細胞板）を形成することにより行われる。細胞質分裂時にはフラグモプラスト（隔膜形成体）と呼ばれる微小管やアクチン繊維を主な構成要素とする構造体が細胞の中心部に形成され、その後中心部分の細胞骨格は消失してリング状の構造となり遠心的に広がっていくとともにその内側で細胞板が発達する。細胞板の形成にはフラグモプラストの役割が必須であるが、この構造体が隔壁形成にどのように関わっているのかはよくわかっていない。また、細胞板の主成分である細胞壁多糖の合成はどの様に行われているのかもよくわかっていない。

植物細胞の細胞質分裂の研究には細胞質分裂を同調的に起こす系が必要であった。タバコ培養細胞 BY-2 を DNA 合成阻害剤であるアフィディコリンを用いてその細胞周期を同調化する。さらに微小管破壊剤であるプロピザマイドで処理をすると周期は分裂中期で停止し、薬剤を除去すると同調的な分裂が起こった。プロピザマイド除去後 90 分後には 60～70% の細胞がフラグモプラストを持っていた。分裂後期～終期にあるプロトプラストを界面活性剤で処理することによりフラグモプラストを単離した。細胞中のフラグモプラストのアクチンフィラメントはグルタルアルデヒドとオスミウムによる固定によって殆ど破壊されるので、これまで電子顕微鏡では殆ど観察できなかったが、単離フラグモプラストのアクチンフィラメントを H-メロミオシンとトロポミオシンで修飾し、安定化することによって多くのアクチンフィラメントが観察された。アクチンフィラメントは殆どが細胞長軸と平行に近い方向に並んでおり、そのうち約 80% は H-メロミオシンの矢の方向が赤道面から娘核の方に向いていた。単離フラグモプラストを急速凍結置換法により固定し、電子顕微鏡観察したところ微

小管には多くの小胞が結合していた。

次に、細胞板形成に関わる多糖合成酵素の存在位置を単離フラグモプラストを用いて調べた。細胞壁多糖合成酵素（糖転移酵素）は一般に膜蛋白質であると考えられているので、フラグモプラストは界面活性剤を用いず物理的方法によって単離した。単離フラグモプラストをUDP- $[^3\text{H}]$ -糖とインキュベートし、固定、包埋後切片にし、放射能の分布をラジオオートグラフィを用いて調べた。

UDP- $[^3\text{H}]$ グルコースからの放射能の取り込み（主に1, 3- $\beta$ -グルカンの合成として）は細胞板に、高濃度の非放射性UDP-グルコース存在下でのUDP- $[^3\text{H}]$ キシロースからの取り込み（おそらく主にキシログルカンの合成として）はゴルジ体に、UDP- $[^3\text{H}]$ ガラクトースからの取り込みは細胞板に存在した。このように細胞板の多糖合成に関わる糖転移酵素の存在位置がわかってきた。

### 論文審査の結果の要旨

高等植物の細胞質分裂の様式は、動物細胞のそれと大きく異なり、細胞質は核分裂後2つの娘核の間に生じたフラグモプラストの働きにより仕切りの細胞壁が形成されることにより2分される。細胞質分裂の担い手であるフラグモプラストは植物細胞に固有の構造体であるにもかかわらず、長い細胞周期の中の限られた短い時間しか出現しないところから、構造学的な研究以外には殆ど研究が行われていないのが現状である。

柿本君はフラグモプラストの研究を行うためには、フラグモプラストを有する細胞を高頻度に含む細胞集団を得ることが必須であると考え、細胞周期同調化法の開発を試みた。彼は細胞周期の比較的短いタバコ培養細胞を用い、細胞周期の進行をDNA合成阻害剤であるアフィディコリンおよび微小管重合阻害剤であるプロピザマイドにより一時的に停止させることにより同調化に成功し、さらにこの方法により得たフラグモプラストを有する細胞を高頻度に含む細胞集団よりフラグモプラストを単離することに成功した。

彼はさらに単離したフラグモプラストを用い、細胞そのものを対象とした従来の研究からは明らかにされなかったフラグモプラスト中のアクチン繊維の極性の方向を明らかにしたり、微小管に径約0.1  $\mu\text{m}$ の小胞が多数付着していることを明らかにした。また単離フラグモプラストが仕切りの細胞壁の主成分である多糖の合成能を保持しており、多糖合成の場が多糖の種類によって異なることも明らかにした。

以上の単離フラグモプラストを用いて得た知見は植物の細胞質分裂の機構を解明する上で重要なものばかりであり、さらに、単離フラグモプラストを得る目的で開発した細胞周期同調化法はフラグモプラスト研究のみでなく植物細胞生物学のあらゆる分野の研究に有用なものである。従って本論文を博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。