

Title	Anchoring mechanism of microfilaments in Vallisneria mesophyll cells
Author(s)	柳, 政和
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39917
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	柳 政 和
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 2 3 4 7 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生理学専攻
学位論文名	Anchoring mechanism of microfilaments in <i>Vallisneria mesophyll cells</i> (オオセキショウモの葉肉細胞におけるマイクロフィラメント束の安定化機構)
論文審査委員	(主査) 教授 永井 玲子 (副査) 教授 柴岡 弘郎 教授 中西 康夫

論 文 内 容 の 要 旨

淡水産の単子葉植物であるオオセキショウモの葉肉細胞の原形質流動は、光照射や薬品の添加、機械的な刺激等によって誘発されることがよく知られている。誘発された原形質流動は葉の表面に垂直な 4 面（葉の長軸に沿う 2 面：SIDE WALL と葉の短軸に沿う 2 面：END WALL）の細胞壁に沿っておこり、この流動は周回型と呼ばれている。サイトカラシン B (CB) によって、この流動は阻害される。又、細胞質が流動する方向に一致してマイクロフィラメント (MF) 束が細胞外質部に並んでいることが観察されてきた。Masuda らによって MF 束が細胞内の特定の部位で、細胞壁の関与のもとに、プロテアーゼ感受性を持つ何らかの因子によって安定化を受けていることが示唆された。

私の研究は MF 束がどのような機構によって安定化されているかを知ることが目的としている。その最初のステップとして Masuda らが予測しているような安定化のための特定の部位が存在するかを検討した。そのために CB を用いて MF 束がどのように壊され、またどの部位で残るかを観察した。SIDE WALL (SW) では $100 \mu\text{g/ml}$ の CB で処理すると、MF 束は断片化され、18 時間後には細胞中のほとんどの MF 束はなくなる。しかし、細胞の両端の部位の蛍光のシグナルだけは残っていた。EW では 48 時間処理しても、MF 束は完全には消失せず断片化されても残っていた。これらの結果より、流動の軌道である MF 束は細胞内で全長にわたって保持されているのではなく、EW の部分でより安定化されていると考えられる。MF 束が細胞壁の関与のもとに安定化されている仕組みとして、動物細胞のフォーカルコンタクトで知られているような、細胞膜貫通蛋白質であるインテグリンファミリーとそれらのリガンドである細胞外基質蛋白質とを介した様式を想定することができる。そこで細胞外基質蛋白質であるフィブロネクチンやビトロネクチン中のインテグリン結合部位と考えられているアミノ酸配列 RGD を含むヘキサペプチド (GRGDSP、この合成ペプチドは動物細胞のフィブロネクチンやビトロネクチンへの接着を阻害することが知られている) と RGD と同等の機能、免疫性を有すとされている RYD を含むヘキサペプチド (ARYDEI) を用いて MF 束に対する影響を調べた。5–15mM RGD、或いは RYD で 24 時間処理したとき、原形質流動のパターンが著しく乱された。これと相関して色々なパターンでの MF 束の乱れが観察された。コントロールペプチドである RGE、RYE 処理では流動の乱れはほとんど起こらなかった。RYD をヘモシアニンに架橋し、これを抗原として作製した抗体を用いた間接蛍光抗体法により細胞壁は染色された。またこの抗体を用いてウエスタン・ブロットを行なったところ 54kD のタンパク質が見いだされた。

これらの結果より、原形質流動の軌道であるMF束は全長にわたって保持されているというよりはEWの部分で、より安定化されており、この安定化機構には細胞壁中のRYDもしくはRGD配列をその分子内にもった蛋白質（多分54KD蛋白質）が関与していることが強く示唆された。今後は細胞膜にRGDもしくはRYD受容体としてインテグリン様蛋白質が存在するのかどうかを確かめる必要がある。更にMF束を安定化している構造及びそれに参画している細胞質中の分子種がどのようなものであるかを種々の蛋白質に対する抗体を用いて電子顕微鏡レベルで調べようと思っている。

論文審査の結果の要旨

動、植物を問わず、細胞内では様々の様式の運動がみられる。それらは生物の営みのさまざまな局面で重要な役割を演じており、基本的な生命現象のひとつであるといえる。植物細胞にみられる原形質流動もそのひとつの運動様式である。これまでに、この動きの仕組みを知るために多くの研究がなされ、一定の結論が得られている。即ち、この論文の題名にあるように、運動性蛋白質、アクチンから成るマイクロフィラメントの束状集合体（MF束）が運動のための軌道を提供する。モーター蛋白質、ミオシンが細胞内小胞の表面に結合し、ATP存在下に、小胞がMF束に沿って滑り運動をすることによって可視的な原形質流動がおこされるというものである。MF束が軌道として働くためには、それらは細胞内のしかるべき場所に安定して敷設されている必要がある。著者はオオセキショウモの葉肉細胞を用い、MF束が細胞内の何処に、どのような機構で安定して敷設されているかを明らかにするという目的をもって研究を行った。その結果著者は、MF束は細胞の全長にわたって保持されているのではなく、細胞の長軸端（End Wall；要旨参照）でより安定化を受けていること、細胞壁中の蛋白質（RGD或いはRYDモチーフを持つ）が細胞膜貫通蛋白質（未同定）を介してMF束を安定して敷設することに働いていること、更に抗RYDペプチド抗体を用いて、これと特異的に交差反応をする54kD蛋白質を見いだした。これらの結果はMF束の安定化機構の全面的な理解に大きく貢献するものである。一方に、細胞外基質としての細胞壁－細胞膜－細胞骨格から成る複合体が植物にも存在し、機能していることを明確に示したと云える。よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。