



Title	Analysis of the Organization of Radial Microtubules on the Nuclear Surfaces in Higher Plant Cells
Author(s)	堀田, 崇
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48790
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	堀 田 崇 ^{ほつ た たかし}
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 6 3 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 12 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	Analysis of the Organization of Radial Microtubules on the Nuclear Surfaces in Higher Plant Cells (高等植物細胞の核表面における放射状微小管の構築機構の解明)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 原 口 徳子 (副査) 教 授 小 倉 明彦 准教授 高木 慎吾 准教授 水野 孝一

論 文 内 容 の 要 旨

中心体は動物細胞において間期・分裂期を問わず微小管形成の一手を担う細胞内オルガネラである。中心体のような微小管形成の場を微小管形成中心 (Microtubule-organizing center, MTOC) と呼ぶ。高等植物は中心体を持たず、いかなる MTOC が中心体機能を補償しているのかという疑問を強く抱かせる。高等植物は中心体を持たないにもかかわらず、その微小管構築群は多様である。高等植物の MTOC は細胞内の多様な場所に散在し、それぞれの場所で微小管をダイナミックに構築する。本研究では、核から放射状に伸びる微小管に着目し、1. その MTOC を明らかにすること、2. その微小管構築のメカニズムを明らかにすること、3. 放射状微小管の核膜上での形成部位を特定すること、を目標として定めた。当研究室では以前に、核膜で機能する MTOC 因子の同定を試み、懸濁培養細胞タバコ BY-2 細胞より核を単離し、微小管構築活性を有する因子としてヒストン H1 を見出していた。しかしながら、ヒストン H1 が核表面で機能していると結論づけることは容易でなく、あくまで核表面で働く MTOC の一候補でしかなかった。

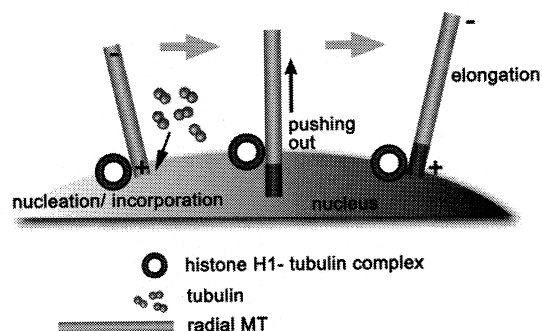
本研究で私はまず、放射状微小管伸長時にチューブリンが微小管の基部側末端で取り込まれていくことを明らかにした。同様に、ヒストン H1 とチューブリンだけを含むシンプルな系において形成されるアスター状の微小管に関しても、重合がその基部側 (アスターの中心側) 末端で起こることを示した。アスター状微小管の中心にはヒストン H1 とチューブリンとからなる複合体が集合していた。ヒストン H1 チューブリン複合体によって構築されるアスター状微小管は核表面から形成される放射状微小管とその重合様式において非常によく似ており、ヒストン H1 チューブリン複合体が核表面における MTOC の正体であるという仮説を支持した。また、ヒストン H1 抗体が核表面からの微小管の伸長を阻害するという結果もこの仮説を支持した。さらに、間接蛍光抗体法によりヒストン H1 は核内のみならず核表面にも局在することがわかった。この核表面におけるヒストン H1 の局在は DNA の染色と一致せず、核表面にリンカーヒストンとは異なるヒストン H1 が局在することを示唆した。

事前に調製しておいたヒストン H1 チューブリン複合体および極性を可視化した微小管を混合したところ、ヒストン H1 チューブリン複合体は微小管のプラス端に結合し、プラス端を中心側に向けて極性を揃えたアスター状構造が構築された。ヒストン H1 チューブリン複合体が微小管のプラス端とアフィニティを持つことが示されたことから、

アスター状微小管、ひいては放射状微小管の基部側末端がプラス端であると推測された。これは植物の核表面から伸びる微小管が、動物細胞において中心体から伸びるそれとは全く逆の極性を持つことを意味している。

以上の結果から放射状微小管の形成メカニズムに関して右に示すようなモデルを提唱したい。核膜孔複合体の細胞質側露出面に局在すると推測されるヒストン H1 チューブリン複合体がチューブリンの重合核形成反応を促進し

(nucleation)、逐次チューブリンの付加を微小管の基部側末端で誘導 (incorporation) する。一方でヒストン H1 チューブリン複合体の微小管プラス端へのアフィニティは、チューブリン重合で新たに現れた最新のプラス端へのヒストン H1 チューブリン複合体の結合を生じさせ、結果的にこのことが出来た微小管を外側へ送り出す (elongation) 原動力となると考えられる。本研究により、新たな MTOC としてヒストン H1 チューブリン複合体の性質が明らかとなった。



論文審査の結果の要旨

申請者 堀田崇は、植物細胞の増殖の仕組みを解明する一環として、核表面から放射状に伸びている放射状微小管の形成機構を解析し、植物細胞独自の微小管形成機構を発見した。植物細胞の増殖の仕組みを知ることは、単に真核生物に共通する細胞増殖の原理の探求といった学術的に重要な基礎研究課題というだけでなく、地球環境の維持や人類の食料確保といった社会的にも重要な研究課題といえることができる。これまで動物細胞に必須な微小管形成中心としてのセントロソーム構造は植物細胞には存在せず、動物とは異なる仕組みで微小管が形成されるものと考えられていた。しかし、その仕組みについては、核膜表面が微小管形成に重要と考えられていたものの、分子レベルの知見は全く得られていなかった。申請者は、微小管形成能を持つ分子として水野准教授らが同定したヒストン H1 に注目し、その分子が植物細胞の核膜表面に存在し微小管形成を促進するということを、独自に開発した蛍光イメージング法や電子顕微鏡観察法などの独創的な方法を用いて証明した。申請論文の主な業績は、第一に、植物細胞では、核（膜）表面に存在するヒストン H1 のリング状複合体が放射状微小管形成のプラスエンドとして働くことを示した点であり、第二に、その放射状微小管の形成が、核膜孔複合体近傍から起こることを示した点である。これらの発見は、これまで動物細胞や酵母細胞で得られていた微小管重合の定説を覆すものであり、今後の該当分野の発展に大きく貢献する高い学術的価値を持つものである。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。