2013年度後期　第8回　細胞生物学セミナー

日時：12月11日（水）17:00~

場所：総合研究棟6階クリエーションルーム

A CLASP-modulated cell edge barrier mechanism drives cell-wide cortical microtubule

organization in Arabidopsis

Ambrose, C., Allard, J. F., Cytrynbaum, E. N., Wasteneys, G. O. (2011)

Nat. Commun. 2 : 430

微小管結合タンパク質CLASPが制御する細胞の縁における表層微小管の伸長を制限する機構は、

シロイヌナズナにおいて細胞全体の表層微小管の配列の組織化を引き起こす

植物細胞は強固な細胞壁に囲まれるため、植物の器官の形態は個々の細胞の成長および伸長の方向によって決定する。植物細胞の伸長の方向は細胞壁のセルロース微繊維の向きに依存し、そのセルロース微繊維は同様の配列をした細胞膜の表層に存在する表層微小管に沿って合成されると考えられている。そのため、表層微小管の配列は植物の器官および細胞の形態決定に大きく関与している。表層微小管は伸長と収縮を繰り返す動的不安定性と呼ばれる性質を持ち、細胞の伸長軸に対し直交し、互いに平行に配列することが知られているが、このような配列を決定している機構については未だ不明な点が多い。そこで筆者らは、細胞全体の表層微小管の配列を決定している機構を明らかにするため、微小管を安定化することで伸長を制御し、細胞の伸長および分裂に深く関わっていると考えられている微小管結合タンパク質CLASPに注目し、共焦点顕微鏡観察とコンピュータによる表層微小管の配列のシミュレーションを用いて、CLASPと表層微小管の配列との関係について調査を行った。

試料にはシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Columbia）の3～4日齢の芽生えを用いた。GFP-CLASPを発現させたシロイヌナズナの根端を観察したところ、分裂直後の細胞ではCLASPは細胞の水平壁に沿った縁で特に局在しており、伸長している細胞では放射壁に沿った縁に局在がみられた。葉の表皮細胞では細胞の縁に沿ったパッチ状の局在がみられた。また、GFP-CLASPのシグナル強度は局在している細胞断面の周囲長が短くなるほど強くみられたため、CLASPは細胞の鋭い縁に特に局在していることが示された。次に、微小管との関係性を調べるため、微小管を可視化したRFP-βTubulin6（RFP-TUB6）とGFP-CLASPを共発現させたシロイヌナズナの根端および葉の表皮細胞を観察したところ、細胞の縁において、隣接している面を横断する微小管の束（transfacial bundles, TBs）で共局在していた。続いて、細胞の縁においてCLASPが微小管に与える影響を調べるため、CLASPが発現しない*clasp-1*変異体を用いて免疫染色により根端および葉の表皮細胞の微小管の観察を行った。その結果、特に分裂している細胞においてTBsが著しく減少し、表皮の細胞の縁が湾曲したことから、CLASPはTBsおよび細胞の鋭い縁の形成に関与していることが示唆された。また、細胞の縁における微小管の挙動を調べるため、葉の表皮細胞のCLASPが存在しない領域において表層微小管の経時観察を行ったところ、細胞の縁で微小管の屈曲および収縮がみられた。このことから、細胞の縁では表層微小管の伸長は制限されていると考えられる。CLASPが存在する領域においても表層微小管の経時観察を行ったところ、細胞の縁で微小管が収縮する割合が著しく減少した。このことから、CLASPは細胞の縁における表層微小管の伸長の制限を緩和していると示唆される。さらに、これまでに得られた実験結果をもとに、細胞の縁における微小管伸長の制限、CLASPの有無を組み入れ、*clasp-1*変異体の細胞、分裂直後の細胞、葉の表皮細胞の3パターンについてコンピュータによる表層微小管の配列のシミュレーションを行ったところ、実際に観察された微小管と同様の配列が確認できた。

これらの結果から、微小管結合タンパク質CLASPは細胞の縁における微小管の伸長の制限を調節し、細胞全体の表層微小管の配列のパターンを作り出していることが明らかとなった。

興味を持たれた方は、是非ご参加ください。　　栗林剛正