2013年度前期　第1回　細胞生物学セミナー

日時：5月14日（火）17:00~

場所：総合研究棟6階クリエーションルーム

Decision of spindle poles and division plane by double preprophase bands in a BY-2 cell line expressing GFP–Tubulin

Yoneda, A., Akatsuka, M., Hoshino, H., Kumagai, F., Hasezawa, S. (2005)

Plant Cell Physiol. 46 : 531-538

GFP-Tubulinの発現したタバコ培養細胞BY-2における2つの分裂準備帯による紡錘体の極

および分裂面の決定

高等植物の細胞の細胞周期におけるG2期には細胞膜直下に微小管からなる帯状の構造である分裂準備帯（プレプロフェーズバンド、PPB）が現れる。PPBは細胞分裂の前中期に消失するが、紡錘体の双極の軸はPPBとは垂直の位置に形成され、細胞質分裂時に形成される細胞板はPPBの存在した位置で親細胞の細胞壁と合着し細胞質分裂が行われる。そのためPPBは紡錘体の極の方向に影響を与え、細胞の表層に細胞板との合着を誘導する何らかのメモリーを残すと考えられている。そのメモリーの一つとして、PPBの消失後にほぼ同じ位置で細胞の表層域に存在するアクチン微小繊維が消失する領域（actin-depleted zone、ADZ）が機能しているとされている。しかし、PPBと紡錘体の極の方向および細胞板の形成との明確な関係性は未だ不明である。そこで筆者らは、薬剤処理により細胞周期を同調させたタバコ培養細胞BY-2（*Nicotiana tabacum* ‘Bright Yellow 2’）が頻繁に通常とは異なる2つのPPBを持ち、紡錘体の極の数や細胞板の向きに変化が起こることに注目した。PPBと紡錘体の極の方向および細胞板の形成との関係性を調査するため、通常通り1つのPPBを持つBY-2と細胞周期の同調により2つのPPBを持つBY-2の紡錘体の極と細胞板の形成について観察し比較を行った。

材料には、タバコ培養細胞BY-2および緑色蛍光タンパク質（GFP）と微小管の融合タンパクを発現したBY-2（BY-GT16）を用いた。細胞周期の同調には8日間培養したBY-2およびBY-GT16にDNAポリメラーゼ阻害剤であるアフィディコリンによる処理を24 時間行い、共焦点顕微鏡を用いて観察を行った。細胞分裂前期から中期にかけて観察を行ったところ、1つのPPBを持つBY-GT16では紡錘体の極は2つでPPBの存在していた領域と垂直な軸上に位置していた。それに対して2つのPPBを持つBY-GT16では3つ以上の極を持つ紡錘体が見られたが、中期では2つに変化していた。1つのPPBを持つBY-GT16では3つ以上の極を持つ紡錘体が全く見られなかったことから、PPBは紡錘体の極の数の制御に関わっていることが示唆された。またこの結果から細胞分裂前中期には紡錘体の極を2つに修正する機構があると考えられる。微小管の免疫染色を行ったBY-2でも同様の結果が得られたため、この結果は形質転換や人為的操作によるものではないことが示された。次に2つのPPBを持つBY-GT16において紡錘体の極の位置を調べたところ、紡錘体の極は2つのPPBの間の領域における中間部とそれらの外側に局在していた。このことからPPBは紡錘体の極の位置の決定に関与していると考えられる。次に細胞板形成に与える影響を調べるため、2つのPPBを持つBY-GT16を細胞分裂終期まで観察を行った。すると紡錘体の双極の軸は親細胞の細胞壁に対し垂直から傾いて形成しており、細胞板も紡錘体の赤道面と同じ領域に傾いて形成していた。非処理の正常なBY-GT16の細胞板の角度と比較したところ、非処理では親細胞の細胞壁と垂直に形成しているのに対し、2つのPPBを形成した細胞では2つのPPBが存在していた領域を架橋するように斜めに細胞板が形成していた。このことからPPBは細胞の分裂面の決定にも関与しており、2つのPPBは細胞の分裂面を変化させることが示された。さらにPPB消失後の細胞への影響を調べるため、 2つのPPBを持つBY-GT16にローダミン-ファイロジンによりアクチン微小繊維の染色を行い観察したところ、2つのPPBが存在していた領域にアクチン微小繊維は存在していなかった。このことから2つのPPBが存在する場合においても、ADZが細胞の表層に細胞板との合着を誘導するメモリーとして機能している可能性が考えられる。

興味を持たれた方は、是非ご参加ください。　　栗林剛正