

識別番号 P 9

2009 年度完了学内共同研究

研究課題 動物細胞と植物細胞に共通する細胞骨格の働き

研究代表者 林 謙介 (理工学部・物質生命理工学科)

共同研究者 神澤信行 (理工学部・物質生命理工学科)

菊池昭彦 (理工学部・機能創造理工学科)

Summary Animal cells and plant cells have common cytoskeletal components: microtubules and actin filaments. The functions of these cytoskeletons are, however, known to be largely different between the two types of cell. In this study, we found plant cell-like function of microtubules in animal cells, and animal cell-like function of actin-filaments in plant cells. These findings provide a new scope on the basic function of cytoskeletons. We also established an educational system of bio-imaging techniques for graduate students.

1. 本研究の目的

(1) 細胞の骨格である微小管とアクチン線維は動物の細胞にも植物の細胞にも共通して存在しているが、その働きは両者において大きな違いがある。本研究では動物細胞の細胞骨格に植物細胞的な働きを、また、植物細胞の細胞骨格に動物細胞的な働きを探し出し、動植物に共通した細胞骨格の機能を明らかにしようとするものである。(2) 近年急速に発展しているイメージング(可視化、画像処理)技術を向上させるとともに、それを大学院生に系統的に教育するためのトレーニングコースを構築することも目的のひとつである。

2. 実験の方法

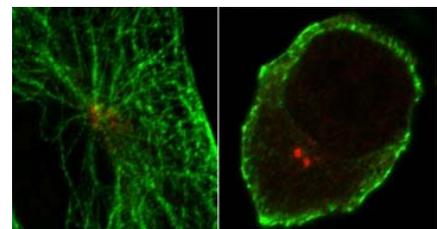
動物細胞としては胎生ラット大脳皮質神経細胞、神経系株化細胞 Neuro2A を、植物細胞としてはオジギソウ主葉枕を用いた。

3. 研究結果

(1) 動物細胞における植物細胞的な細胞骨格機能

動物細胞では、微小管の重合起点は中心体に局在している。従って、微小管は細胞内で中心体を起点とする放射状の配置をとり、微小管の極性はプラス端遠位である。一方、植物の細胞では、微小管の重合起点は細胞周辺に散在しており、従って微小管は細胞周辺に一様に、ランダムな極性の配列をとっている。また、その微小管は切断酵素によって自由に配列を変化させ、細胞の形態変化に対応する。

① 神経系株化細胞 Neuro2A の微小管を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、通常の動物細胞のような中心体を起点とした放射状の配列は見られず、植物細胞のように細胞周辺に局在していることがわかった(図1)。また、RNA干渉法を用いて Spastin (神経細胞で主に発現している微小管切断酵素)を発現抑制したところ、細胞運動、および突起形成が抑制された。このことは、Neuro2A 細胞では植物細胞と同様に細胞周辺における微小管再構築機構が働いている可能性を示唆している。



(図1) 通常の細胞では微小管は中心体を起点として放射状にある(左)のに対し、Neuro2A 細胞では中心体に結合しておらず、細胞周辺にある(右)。

② 神経細胞の樹状突起内の微小管は、動物細胞では珍しくランダムな極性を持っている。我々はこれまで、樹状突起内に微小管の重合起点が存在する可能性を主張してきた。本研究では、微小管重合起点関連タンパク質（ガンマチューブリンとニナイン）の樹状突起内局在を調べた。発生過程において神経細胞に樹状突起が発達してくると、それらのタンパク質が中心体から樹状突起へ移動することがわかった（図2）。すなわち、神経細胞は、微小管の重合起点を細胞周辺に持つという植物細胞に類似した特徴を持っている可能性が示唆された。

（2）植物細胞における動物細胞的な細胞骨格機能

アクチン繊維は、動物細胞においては細胞形態の変化に必須な役割をもっている。ミオシン分子との相互作用や、ビリンなどのアクチン結合タンパクによる束化や切断によって細胞運動が制御される。一方、植物細胞のアクチン繊維は、主に細胞内の原形質流動におけるレールとして働いている。

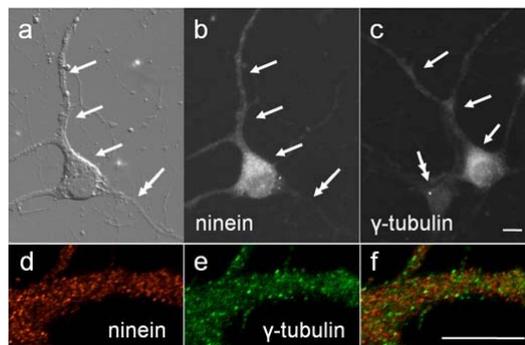
我々は植物細胞において顕著な細胞運動を示すオジギソウ主葉枕に着目し、そのメカニズムを研究してきた。これまでの研究により、アクチン繊維の束化、切断が主要枕細胞の細胞運動に深く関わっていること、また、その過程には動物細胞のビリンと相同の、植物ビリンが関与していることを明らかにしている（図3）。本研究では、アクチンに蛍光物質を付加することで、簡便にアクチン繊維を観察する技術を確認し、アクチン結合タンパク質であるビリンの生理的な作用を顕微鏡下で再現することに成功した。この方法とその他の生化学的解析方法を組み合わせ、オジギソウのビリンがアクチン繊維の束化能と、カルシウムイオン依存的な核形成能、キャッピング能、切断能を持つことを明らかにした。この結果は、植物細胞においても、動物細胞と同様にアクチン結合タンパク質による運動制御が行われている可能性を示唆している。

（3）顕微鏡観察技術の向上と、教育システムの構築

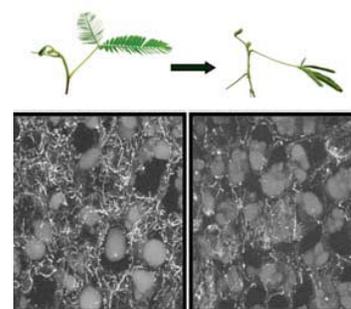
学生対象の顕微鏡観察技術教育システムを構築した。3日間のレクチャーコースと1、2回の技術講習会を2007年度より開設し、2008年度、2009年度と回を重ねることにより、充実した内容を作ることができた。

4. 考察

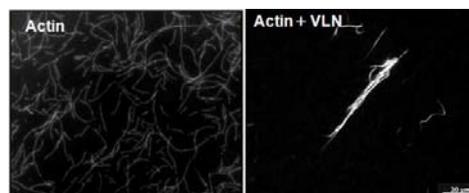
本研究では、主に顕微鏡を用いた形態学的観察により、動物細胞と植物細胞の細胞骨格機能の類似点が示唆された。そこで観察の対象となった分子が、本当に期待通りの働きを持っているかどうかは、更に機能解析を進めるとともに、最終的には機能欠失実験が必要である。



（図2）培養した神経細胞では、微小管の重合起点関連タンパク質は中心体ではなく、樹状突起に移動した。



（図3）運動前（左）と運動後（右）の細胞内アクチン線維。運動前にはあった束化されたアクチン線維が運動後には切断、脱束化されている。



（図4）アクチン線維（左）に植物ビリンを与えると太い束になる（右）。