



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Relationship between actin plate formation and cytokinesis progression in apical cells of the brown alga <i>Sphacelaria rigidula</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	青木, 日向子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第15722号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91860
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hinako_Aoki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士 (環境科学)

氏名 青木 日向子

審査委員 主査 教授 長里 千香子
副査 教授 星野 洋一郎
副査 助教 市原 健介
副査 准教授 上原 亮太 (大学院先端生命科学研究院)

学位論文題名

Relationship between actin plate formation and cytokinesis progression
in apical cells of the brown alga *Sphacelaria rigidula*
(褐藻ワイジガタクロガシラ頂端細胞におけるアクチンプレート形成と
細胞質分裂進行の関係性について)

褐藻はストラメノパイル系統群に属する海産多細胞生物である。多細胞体制を獲得した真核生物のグループは5つのみ(動物, 菌類, 陸上植物と緑藻を含む緑色植物, 紅藻, 褐藻)であり, それぞれ独立してその体制を進化させたと考えられている。多細胞生物にとって細胞質分裂は, 形態形成の方向性を司る重要なプロセスである。細胞質分裂装置は主に微小管とアクチンからなり, 生物群で多様性が見られる。分裂装置の相違は, 細胞質分裂面の進行方向と大きく関係している。褐藻の細胞質分裂は多くの場合, 核分裂後の娘核近傍に存在する中心体の位置が分裂面を決定し, 中心体から娘核間に伸びる微小管の交差部位に, アクチンプレート (AP) が出現する。その周辺ではゴルジ小胞と平板小囊の蓄積・融合が生じ, 新生された隔膜が細胞内部から親細胞壁に向けて拡張することで細胞質分裂が完了する。APは褐藻の細胞質分裂に見られる特徴的な構造であるが, その形成過程や機能については明らかにされていない。一方, 褐藻ワイジガタクロガシラ (*Sphacelaria rigidula*) では, APの形成は見られるが, 細胞質分裂は他の褐藻とは異なり, 細胞質分裂予定域の細胞膜が内側にくびれ込み, その陥入部分へゴルジ小胞と平板小囊が融合することで求心的に細胞質分裂が進行すると考えられている。本研究では, 褐藻ワイジガタクロガシラの細胞質分裂過程について再検討を行い, この種の頂端分裂細胞の分裂頻度が他の褐藻と比べて高いことに着目をし, APと隔膜の同時観察からAPの形成とその機能について調べることを目的として研究が行なわれた。

本研究では, 細胞質分裂進行の様子を観察するために膜結合性色素であるFM4-64FXを用いて, 固定細胞と生細胞で観察が行われた。ワイジガタクロガシラの細胞質分裂では, 確かに細胞膜の陥入が生じるが, 同時に細胞内部からの隔膜形成と拡大が見られ, 最終的に陥入部と連結して細胞質分裂が完了する様子が捉えられた。さらに, 細胞膜をはじめとする細胞膜系を良好に保存する急速凍結置換法を施して電子顕微鏡試料を作製し, 透過型電子顕微鏡による観察を行った。その結果, これまでに報告のある褐藻数種の細胞質分裂と同様に, 細胞質分裂予定域の内部でゴルジ小胞と平板小囊の融合により隔膜が形成されていることが微

細構造レベルでも確認された。

ワイジガタクロガシラの細胞質分裂が他の褐藻と同様の様式で進行していることを確認した上で、褐藻の細胞質分裂時に特異的に出現するAPの形成及び隔膜拡大との関係を調べるための解析が行われた。実際には、アクチンに結合する蛍光標識ファロイジンとFM4-64FXの二重染色によって観察が行われ、その結果、APと隔膜形成は同所かつ同時に生じ、共に拡大していく様子が捉えられた。APと隔膜が同時に観察されたことにより、隔膜形成にAPが関与していることが示唆された。続いて、隔膜形成と拡大におけるAPの挙動を生細胞で経時的に調べるために、Alexa Fluor 488標識ファロイジンを細胞内へ顕微注入し、FM4-64FX染色による観察が行われた。その結果、APがやや先行して分裂面に出現し、隔膜形成が遅れてAPの形成部位で生じていることが明らかになった。さらに、APと微小管の関係について調べるために、蛍光標識したファロイジンもしくはアクチンとチューブリンを細胞内へ顕微注入し、生細胞での観察を試みている。その結果、ローダミン標識アクチンとHiLyte Fluor 488標識チューブリンを合わせて顕微注入することで二つの構造が同時に観察可能であることを示した。経時観察の結果、AP出現前に、中心体から伸長してくる微小管の交差領域に偏りが見られ、微小管が多く見られる部分でAPが形成されていることが示された。そして、拡大するAPの縁辺に微小管が存在している様子が観察された。微小管と隔膜形成との関係については、HiLyte Fluor 488標識チューブリンとFM4-64FXを用いて調べている。その結果、APの出現と同様に微小管が比較的多く交差する領域で隔膜形成が生じていることが明らかになった。以上の結果から、微小管の配向がAPの出現位置に影響すること、APの形成によってその位置に隔膜形成が開始されるという3者の時空間的關係が示された。先行研究より、微小管は隔膜形成に必要なゴルジ小胞を分裂面に供給する働きを有していることが報告されているが、本研究を通して、微小管はAPと協働して隔膜形成と拡大に関与していることが考察された。今後は、褐藻の細胞質分裂過程の理解のために、微小管とアクチンに相互作用する因子の探索とその機能解明が期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位なども合わせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。