

コケ (*Physcomitrella patens*) を用いた細胞極性形成に関わる遺伝子の探索

樋口 瑞穂 (指導教員 庄野邦彦)

【目 的】

細胞を構成するタンパク質分子や諸装置などは空間的な特定の方向性のもとに配置され機能している。これは細胞極性と呼ばれ、細胞極性は細胞の増殖や分化、運命決定の過程に重要な役割を果たしている。酵母、線虫、ショウジョウバエといったモデル生物を用いたこれまでの解析から、細胞の不等分裂に際して細胞の運命決定に関わる mRNA やタンパク質が非対称に局在することが明らかとなっている。近年、不等分裂の研究から、それに先立つ細胞極性に関わる遺伝子群 (タンパク質群) の同定が進められており、これらの具体的な役割を知ることは細胞の極性化の機構を知る手がかりとなるはずである。しかしながら植物においては細胞極性や不等分裂の分子機構はよくわかっていない。そこで本研究では、植物の細胞極性および不等分裂に関わる因子の単離解析を通してその分子機構を解明することを最終目標とし、その出発点となる不等分裂に関わる候補遺伝子の探索をヒメツリガネゴケを用いて行った。

【方 法】

ヒメツリガネゴケのプロトプラストを材料に、藤田らによって開発された一過的過剰発現スクリーニング系を利用した。これは両末端側からの塩基配列が決定済みの完全長 cDNA クローンを過剰発現用ベクターにサブクローニングし、得られたプラスミドを順次プロトプラストに形質転換し、偏光下で再生過程を観察する (偏光下で培養することにより一定の方向に分裂を制御できる)。通常プロトプラストは不等分裂を繰り返し原系体を再生するため、遺伝子過剰発現によりこの再生過程に異常を示す原因遺伝子を同定する。これまでの大規模スクリーニングにより絞られた候補遺伝子 192 種類に関して、再現性の確認によるさらなる絞りこみ、それらの全長の塩基配列決定、類似性検索による機能予測を試みた。

【結 果】

プロトプラストの再生過程における異常の観察の結果から、候補遺伝子 192 種類のうち、53 種類において不等分裂に関係している可能性が高いと考えられる表現型の再現性を確認できた。それらは、①等分裂になったもの、②球状の 1 細胞のまま肥大したもの、③細胞が分裂せずにカーブしながら伸長したもの、④楕円形になったもの、⑤細胞がクラスター状になったもの、⑥様々な異常形態 (①から⑤の 2 項目以上を含む再生異常) を示したものとして分類できた。このうちの 15 種類が、その塩基配列からすでに極性形成に関わることが知られているタンパク質、または関わりがあると考えられるものをコードしている遺伝子であり、*bem1* / *bud5* のサプレッサー (表現型⑥)、*SCARECROW* 様タンパク質 (①, ④)、カルシニューリン B 様タンパク質 (②)、Zn フィンガータンパク質 (①, ④)、アンキリン様タンパク質 (②)、セリン・スレオニンキナーゼ (①, ②)、プロテインホスファターゼ (④, ⑥)、などであった。また、9 種類のクローンは機能未知のタンパク質や新規なものであった。クローン pph19e07 は、偏光方向とのずれが最も高頻度で見られたクローンであり、楕円形の表現型を示した。この遺伝子は Zn フィンガー構造を持つタンパク質をコードしており、このドメイン自体の機能はまだ明らかにされていないが、線虫の生殖質成分の局在化に関与していることが示されていることから、ヒメツリガネゴケにおいても極性形成に関わることが期待される候補遺伝子である。