

## チューブリン重合阻害剤による分裂酵母の細胞壁形成に及ぼす影響

安 嶋 久美子 (指導教員 大隅正子)

### 【目 的】

酵母の細胞骨格は微小管とアクチン細胞骨格から構成され、細胞活動において重要な役割を果たしている。大隅らは、プロトプラスト再生系を用いた酵母細胞壁の形成過程の解析の中で、アクチン細胞骨格が細胞壁の新生部位に局在することを確認し、分裂酵母の細胞壁の形成においてアクチン細胞骨格が重要な関わりをもつことを明らかにした。しかし、細胞壁形成と微小管の関わりについては、不明なままである。そこで本研究では、二種類のチューブリン重合阻害剤 thiabendazole (TBZ) と carbendazim (MBC) を用いて、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の細胞壁形成に及ぼす影響を解析し、細胞壁形成における微小管の役割を解析することを目的とした。

### 【方 法】

対数増殖期まで培養した *S. pombe* 細胞を、薬剤を添加した YPD 液体培地で4時間振盪培養して行い、蛍光顕微鏡、走査電子顕微鏡、透過電子顕微鏡 (TEM) を用いて解析した。

### 【結 果】

TBZ を 50 ug/ml 以上の濃度で添加した分裂酵母の細胞は、細胞質微小管が消失し、紡錘体微小管のみが残存し、細胞形態は屈曲や分岐を呈した。異常形態を示す細胞のアクチン細胞骨格は、G2 期の細胞ではアクチンパッチが細胞内に散在し、また M 期の細胞ではアクチンリングが形成されず、同様にアクチンパッチが細胞内に散在し、細胞周期に伴った挙動を示さなかった。また、この時の細胞内微細構造を TEM を用いて観察した結果、隔壁形成部位において一次隔壁の肥厚や隔壁形成に伴う細胞膜の陥入の異常、隔壁形成途中での細胞分離の開始が見られた。さらに細胞端に通常 (ゴルジ体由来: 化学固定で 80 nm  $\phi$  ~) より大きい直径約 200 nm の小胞の蓄積や、異常な形態のゴルジ体と小胞様構造体の集合が見られ、ペリプラズム領域における高電子密度の物質の蓄積が観察された。TBZ を添加したプロトプラストからの細胞壁再生過程において、TBZ 無添加の場合と変わらず、再生 3 時間後にはグルカネネットワークがプロトプラストの約半分を覆って発達した。

一方、MBC を 25 ug/ml 以上の濃度で添加した細胞は、TBZ と同様に細胞質微小管が消失し、紡錘体微小管が残存し、細胞形態は屈曲や分岐を呈した。このような細胞のアクチン細胞骨格は、G2 期の細胞では細胞端にアクチンパッチが局在し、また M 期の細胞ではアクチンリングが形成され、アクチン細胞骨格が細胞周期に伴った挙動を示したが、分岐した細胞においては V 字型および Y 字型のリングを確認した。この隔壁は、アクチンリングと一致して、T 字型の細胞では分岐した部位に V 字型および Y 字型に形成され、その位置はアクチンリングと一致していた。また、TBZ と同様に隔壁形成部位の異常が認められ、近接して並んだ隔壁形成部位や非求心的な隔壁の形成、核の分離途中での細胞膜陥入・隔壁形成の開始、細胞膜の陥入の異常などが観察された。細胞内においては、小胞とゴルジ体の異常は見られなかったが、核の位置の異常や周辺に並んだ液胞による変形、核分離の異常が認められた。

以上の結果から、二種の薬剤存在下の栄養増殖細胞において、チューブリンの重合阻害による細胞質微小管の消失は、分岐や屈曲などの極性方向の異常を引き起こし、隔壁形成の正常な進行を阻害することから、細胞質微小管が隔壁形成の過程と極性成長のメカニズムに機能することが判明した。また、一般にチューブリン重合阻害剤といわれるこの薬剤は、細胞の微細構造とくに細胞壁の形成に、それぞれ異なる影響を与えることを電子顕微鏡により明確にした。