

形質転換ポプラおよびイネを用いた ゴルジ装置のライブセルイメージング

(京大院農) ○高居 知弘、栗野達也、高部圭司、(京大生存研) 鈴木史朗、(森林総研) 高田直樹

背景

- ゴルジ装置：ヘミセルロースの生合成の場
- 生きた樹木細胞でのゴルジ装置挙動観察例は少ない
- 細胞全体でのゴルジ装置の挙動を観察したい



マンナン合成酵素 (PtCslA1) またはゴルジマーカータンパク質 (GmMan1) に付加した蛍光タンパク質タグ (YFP、mCherry) を発現する組換え体を作製し、生細胞での挙動を共焦点レーザー顕微鏡で観察する

結論

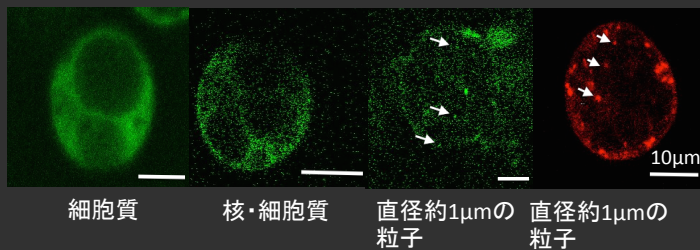
- YFP-PtCslA1融合タンパク質はゴルジ装置に局在すると考えられる
- ゴルジ装置間で機能が異なる可能性
- ポプラではマンナン合成酵素が局在するゴルジ装置の挙動が細胞種によって異なる

結果

イネプロトプラスト

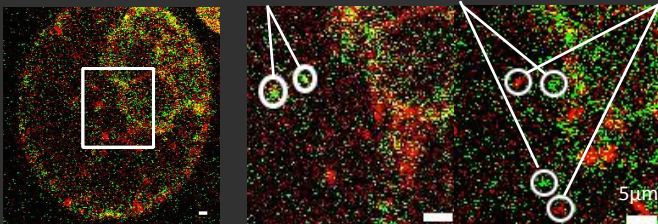
- PtCslA1-YFP導入体はGmMan1-mCherry導入体同様直径1μm粒子に蛍光が見られた

YFP PtCslA1-YFP YFP-PtCslA1 GmMan1TM-mCherry



- YFP-PtCslA1、GmMan1-mCherry二重標識体では、ゴルジ装置ごとに標識が異なった

YFP-PtCslA1、GmMan1-mCherry 二重標識 GmMan1TM-PtCslA1 PtCslA1のみ GmMan1TMのみ



→ GmMan1TM・PtCslA1両標識、GmMan1TMのみ、PtCslA1のみの三種

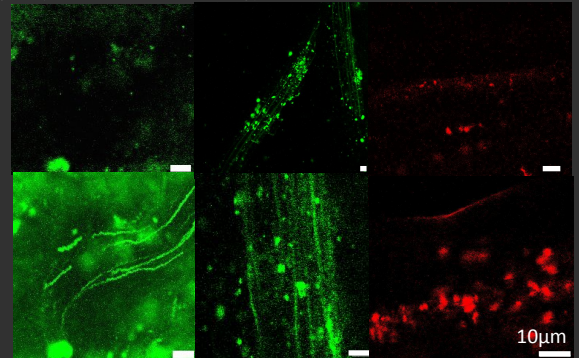
ゴルジ装置間で局在する酵素が異なったすなわち、ゴルジ装置間で機能分担が行われていると考えられる

ポプラ

- 形質転換体での蛍光粒子は細胞種により動きが異なった
- 導入遺伝子ごとに、蛍光粒子が見られる細胞種が異なった
- 木部繊維での動きは、BY-2細胞における既知のゴルジ装置の動きに似ていた

ポプラへの導入遺伝子	直径約1μmの蛍光粒子が見られた細胞	粒子の移動様式
PtCslA1-YFP	葉裏側表皮細胞	一方方向に流動的に移動
	木部繊維	ランダムな方向に素早く移動
	皮層柔細胞	ランダムな方向に移動 あまり動かない粒子もあり
GmMan1-mCherry	皮層柔細胞	ランダムな方向に移動 あまり動かない粒子もあり

葉裏側表皮細胞 PtCslA1 木部繊維 PtCslA1 皮層柔細胞 GmMan1TM



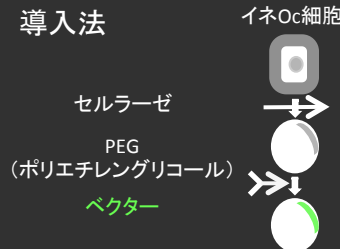
ゴルジ装置の挙動が細胞ごとに異なると考えられる

試料と方法

導入遺伝子



導入法



Populus tremula × P.tremuloides T89茎片

