

氏名	いわ た かず よし 岩 田 和 佳
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2399 号
学位授与の日付	平 成 13 年 11 月 26 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Studies on Factors Affecting the Orientation of Cortical Microtubules in Selected Plant Cells (植物細胞に存在する表層微小管の配向に影響する要素に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 伊 東 隆 夫 教 授 藤 田 稔 教 授 東 順 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

植物細胞の原形質膜直下に存在する表層微小管は、細胞壁に存在するセルロースミクロフィブリルの配向制御を介して植物の形態形成に深く関わっていると考えられており、その配向がセルロースミクロフィブリルの配向の決定に重要であると信じられている。しかし、突然変異体の解析、生きたままでの表層微小管の動態の解析、表層微小管に結合するタンパク質の探求などが行われているにも関わらず、依然として表層微小管の配向制御のメカニズムについては、ほとんどわかっていない。そこで、本論文では、表層微小管の配向に影響を与える要素を見出し、解析を行うことでそのメカニズムに迫ることを目的とした。

第一章では、高等植物のマカラスムギ、エンドウを用いて、表層微小管の配向に影響を与える外的、内的要素を調べた。その結果として、加齢、植物ホルモン、光が見出された。また、これらの要素が相互作用して表層微小管の配向に影響する場合があることも明らかになった。しかし、これらの要素から表層微小管の配向に至る情報伝達経路は複雑であることが予想されるため、それ以上の解析が難しいと考えられた。そこで、もっと解析に適した試料を検討することにした。

藻類の一種であるアオミドロでは、微小管を微小管破壊剤 (APM) で脱重合させた後、再重合させると元の配向 (細胞の伸長軸に対し垂直、これを横とする) に戻ることが知られている。この再重合の際、様々な要素を作用させると敏感に配向に影響を受ける (斜め、縦が増す) ことがわかったため、第二章以降では、この実験系を用いることにした。

第二章では、アオミドロの微小管の配向が、高濃度のマンニトール (0.30M) で同調的に制御されること、その後、膨圧の回復に伴って、膨圧の大きさと配向の間に良い相関が見られることを見出した。0.15M マンニトール存在下で、セルロース結合性色素が、微小管の配向に影響を与える (斜めが増す) こともわかった。

第三章では、微小管の配向がイオンで制御されることを見出した。 $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  で顕著な影響 (斜めが増す) が認められたが  $\text{Ca}^{2+}$  で打ち消された。 $\text{K}^+$  チャンネルブロッカーを作用させ、 $\text{K}^+$  が原形質膜の内側に侵入しない状況にした場合においても同様の結果が得られた。このことから、 $\text{K}^+$  は原形質膜の外側で微小管の配向に影響していると考えられた。また、 $\text{Ca}^{2+}$  をキレートする EGTA と  $\text{Na}^+$  を組み合わせると微小管の配向への影響が大きくなることから、内在する  $\text{Ca}^{2+}$  が、微小管の配向を横にすることに参与していることが初めて示唆された。

第四章では、微小管の配向に影響を与える他の要素、要素同士の組み合わせ及び微小管の配向に対する影響を調べた。その結果、APM の処理時間を長くすることにより、微小管が脱重合した状態を長くした場合に微小管の斜め配向が増加することを見出した。APM で 24 時間処理した後、 $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  溶液中で微小管を再重合させると影響が大きくなり (縦が増す)、 $\text{Na}^+$  では Z ラセン方向に配向した斜めの微小管が、 $\text{K}^+$  では S ラセン方向に配向した斜めの微小管がそれぞれ優先的に出現した。微小管のラセン方向を制御できることを示したのは、この実験系がはじめてである。また、微小管を縦に配向させるマンニトールの作用が、 $\text{K}^+$  で顕著に阻害されるなど、微小管の配向に影響を与える要素同士に興味深い相互作用が認められることが明らかになった。

本研究により、アオミドロの微小管配向に影響を与える要素として、マンニトール、セルロース結合性色素、 $\text{Na}^+$  と

K<sup>+</sup>, EGTA, EDTA, APMが見出された。このうち、Na<sup>+</sup>とK<sup>+</sup>, EGTA, EDTAの三要素の実験結果から、イオンの種類や濃度がアオミドロの表層微小管の配向に強く影響していることが示された。他の要素との共通点は今のところ不明であるが、アオミドロにより明らかにされた要素は、高等植物を含めた植物細胞における表層微小管の配向制御のメカニズムの解明の手がかりになることが期待された。

#### 論文審査の結果の要旨

植物の表層微小管の配向が、植物細胞の形態形成に重要な役割を持っていることは、広く信じられるところである。しかし、その配向を制御するメカニズムについては、ほとんど知られていない。本論文は、高等植物（マカラスムギ、エンドウ）や、藻類（アオミドロ）を用い、表層微小管の配向に影響を与える要素の同定と、その要素の作用機作の解析を通じて、配向制御のメカニズムに迫ろうとしたものである。本研究では、今まで知られていなかった幾つかの要素を同定し、その作用機作に関する新規の知見を得ることができたが、特に評価すべき点は、次の通りである。

- (1) マカラスムギの中胚軸において、光とオーキシンの両者が相互作用しながら表層微小管の配向に影響を与えることを明らかにした。この知見は、光屈性の研究に寄与するものとなっている。
- (2) アオミドロにおいて、マンニトールを用い、表層微小管の配向を同調的に制御することに成功した。細胞の高い均一性も含め、表層微小管の配向の研究に適した実験系としては、今までになかったものである。また、このマンニトールの作用の解析を行う過程で、表層微小管の配向と膨圧との間に、強い相関が存在することが明らかになった。
- (3) アオミドロにおいて、イオンが表層微小管の配向に影響を与えることを初めて明らかにした。特にCa<sup>2+</sup>が表層微小管の配向を横（細胞の伸長軸に垂直）に維持することに関与する可能性を初めて示した。また、イオンを用いることにより、斜めに配向する表層微小管のラセンの向きを制御することに初めて成功した。以上のことから、イオンが、表層微小管の配向制御に深く関わっていることが示された。

また、アオミドロにおいて、表層微小管の配向に類似の影響を与える要素として、マンニトールやイオンを含め複数同定することに成功した。これらの要素は表層微小管の配向を制御するメカニズムに同様の影響を与えていると考えられる。本論文は、表層微小管の配向に影響を与える要素を特定することにより、表層微小管の配向についてはセルロースマイクロフィブリルの配向に関する研究に新しいアプローチを提示した。

以上のように、本論文は、生理的に重要な意味を持つ表層微小管の配向について、多くの新しい知見と研究の新しい方向性を示したものであり、木質細胞構造機能学、植物細胞構造学、バイオマス循環学などに対して寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として、価値あるものと認める。

なお、平成13年9月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。