

(論文内容の要旨)

植物細胞は細胞壁に囲まれており移動できない。そのため、植物の器官の形は、どの方向にどれだけ細胞が増殖するか、また細胞が伸長するかの2つの要因により決まると考えられる。本研究の前半では、器官の形が決まる過程で、方向依存的な細胞増殖と細胞伸長が、どのように制御されているかを明らかにするため、シロイヌナズナ突然変異体 *vajra-1* (*vaj-1*)を用いた分子遺伝学的な解析を行った。また、本研究の後半では、植物の器官の形を決める2つの要因のうち、方向依存的な細胞伸長制御の分子機構について新たな知見を得るため、方向依存的な細胞伸長に関わる新規遺伝子 *ITOSUGI* (*ITG*)の機能解析を行った。

これまで、葉の幅と長さに異常が見られるシロイヌナズナの突然変異体を用いた解析から、葉においては幅方向および長さ方向の異なる二つの方向に依存した細胞増殖および細胞伸長の制御が存在することが明らかになっている。しかし、それらに関わる遺伝子の報告例は、未だ数が少ない。また、花器官については、葉と相同な器官と考えられているにも関わらず、器官の形が決定される過程における方向依存的な発生制御に関する知見は、ほとんど明らかになっていない。本研究で解析に用いた *vaj-1* 突然変異体では、花器官の幅が減少し、一方で長さが増加する。細胞レベルでの表現型解析から、*VAJ* 遺伝子が器官の幅方向における細胞増殖の促進に働き、器官の長さ方向における細胞増殖の抑制に関わることが明らかになった。このことは、花器官の形を決める過程で、幅方向と長さ方向の両方の細胞増殖を統括して制御する機構が存在することを示唆している。また、*VAJ* 遺伝子が方向依存的な細胞伸長の制御にも関与すること、さらには花器官の数の制御や花器官の形成位置の制御に関わる可能性も示された。*VAJ* 遺伝子はスプライソソーム構成因子をコードしていることが分かった。以上の結果から、スプライソソームによる pre-mRNA スプライシングを介した遺伝子発現制御が、方向依存的な細胞増殖と方向依存的な細胞伸長を介して行われる花器官の形の決定に必要であることが示された。

方向依存的な細胞伸長の制御には、細胞表層に存在する表層微小管が深く関わっていることが知られているが、微小管の配向およびその動態がどのように制御されているか、不明な点が多い。*ITG* 遺伝子は、突然変異体の表現型解析から方向依存的な細胞伸長の制御に必要であることが明らかになっている。*ITG* 遺伝子はアルマジロリピートと C2 ドメインからなるタンパク質をコードしており、タンパク質間相互作用を介して方向依存的な細胞伸長に関わると考えられる。本研究では、*ITG::GFP* 形質転換体を用いて、*ITG* タンパク質の細胞内局在性について詳細に解析を行い、方向依存的な細胞伸長制御における *ITG* タンパク質の分子機能を明らかにすることを目指した。*ITG* タンパク質は細胞表層においてドット状の局在パターンを示した。また、*ITG* タンパク質で標識されるドット状の構造体は細胞表層において直線状の移動性を示すことが明らかになった。また、*ITG* タンパク質が表層微小管と共局在すること、および、*ITG* タンパク質の細胞表層における局在性には、表層微小管の正常な動態あるいは配向パターンが必要であることが明らかになった。これらの結果から、*ITG* タンパク質は細胞表層において表層微小管の近傍に局在し機能し、方向依存的な細胞伸長制御に関わる新規タンパク質であることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

本研究で申請者は、植物の器官形成において、方向依存的な細胞増殖および細胞伸長がどのように制御され、器官の形が決まっているのかについて、シロイヌナズナの突然変異体を用いた研究を行った。また、植物の器官形成を理解する上で、方向依存的な細胞伸長制御の分子機構の解明も重要であると考え、方向依存的な細胞伸長に関わる新規遺伝子の機能についての研究も併せて行った。

申請者は、所属研究室で単離された、花器官の形に異常が見られる複数の突然変異体のうち、方向依存的な器官成長に異常が見られる *vaj-1* 突然変異体に着目し、方向依存的な成長制御による花器官の形の制御について研究を行った。定量的な解析から、*vaj-1* では、がく片、花弁、および雄ずいの 3 種類の花器官において共通して、幅の減少、長さの増加が起きていることが明らかになった。また、これらの花器官では、幅方向における細胞増殖が抑制されており、長さ方向の細胞増殖が促進されていることが分かった。このことは、植物が細胞増殖の促進と抑制を方向依存的に調節することによって、器官の形を決めていること、また、それを、*VAJ* 遺伝子を介して遺伝的に制御していることを示している。原因遺伝子の同定から、*VAJ* 遺伝子がヒトおよび酵母のスプライソソーム構成因子と相同性を示すタンパク質をコードすることを明らかにした。さらに、*VAJ* タンパク質が核内においてスプライシング因子 *SC35* と共局在することを明らかにし、*VAJ* タンパク質が pre-mRNA スプライシングに関与する可能性を示した。これらのことから、*VAJ* タンパク質による pre-mRNA スプライシングを介した遺伝子発現制御が、方向依存的な器官成長による器官の形の制御に必要であることが明らかになった。したがって本研究では、高等植物において、pre-mRNA スプライシングによる遺伝子発現制御が、器官形成過程において器官の形を決めることに必要であるという、新たな知見を得た。

ITG 遺伝子は、申請者が所属する研究室で方向依存的細胞伸長の制御に必要な新規遺伝子であることが明らかにされていた。*ITG* タンパク質の分子機能を明らかにすることで、方向依存的な細胞伸長の分子機構について新たな知見が得られると考えられた。そこで、*ITG::GFP* 形質転換体を用いて、*ITG* タンパク質の細胞内局在性について詳細な解析を行った。その結果、*ITG::GFP* は細胞表層において、ドット状および線状の局在パターンを示すことを明らかになった。さらに、*ITG* タンパク質が存在するドット状の構造体が細胞表層において直線的な移動性を示すことを明らかにした。*ITG* タンパク質の局在パターンが、方向依存的な細胞伸長の制御に関わる表層微小管の配向パターンと類似していると考え、*ITG* タンパク質と表層微小管の共局在性について調べた。その結果、*ITG* タンパク質は表層微小管と共局在することが分かった。また、微小管に対する阻害剤を用いた解析から、*ITG* タンパク質の細胞表層での局在性に、表層微小管の正しい動態あるいは配向パターンが必要であることを明らかにした。これらの結果は、方向依存的細胞伸長制御に必要な新規因子 *ITG* タンパク質が、表層微小管の近傍で機能し、表層微小管を介した方向依存的な細胞伸長の制御に関与する可能性を示しており、興味深いものである。

本論文は理学的に重要な内容を、多数含んでおり、また研究の進め方も適切であると判断された。よって、博士(理学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。