

氏 名	木 村(越 野) 泰 裕
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2951 号
学位授与の日付	平 成 17 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	シロイヌナズナの表皮細胞分化を制御する <i>CAPRICE</i> 遺伝子の転写制御機構の分子遺伝学的解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 岡 田 清 孝	教 授 西 村 い く こ	助 教 授 荒 木 崇
--------	----------------------	---------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

植物の細胞分化を制御する転写因子ネットワークについての研究を行った。シロイヌナズナの根の表皮細胞は根毛を形成する細胞（根毛形成細胞）と形成しない細胞（非根毛形成細胞）に分化する。*CAPRICE* (*CPC*) 遺伝子は根毛形成細胞の分化促進因子であり、非根毛形成細胞特異的に転写される。

1. *CPC* プロモーターのシス領域の同定

CPC 遺伝子の非根毛形成細胞特異的な転写制御機構を調べるため、*CPC* プロモーターを詳細に解析した。*CPC* の5' 欠損型プロモーターの活性を形質転換植物を用いて解析した結果、*CPC* の非根毛形成細胞特異的な転写には、-423と-492の間の69塩基対の領域が必要であることが分かった (CWB 領域と名付けた)。CWB 領域の繰返し配列を作製して解析した結果、非根毛形成細胞特異的なプロモーター活性を持っていたことから、CWB 領域が非根毛形成細胞特異的な転写に必要な十分であることが明らかとなった。

2. *CPC* の転写を制御する因子の解析

CWB 領域に MYB タンパク質結合配列が2つ存在したため (CPCMB1, 2 と名付けた)、これらの配列に塩基置換を入れたところ、プロモーター活性は非根毛形成細胞でほとんど見られなくなった。植物の根の表皮細胞分化に関わっていることが示唆されている R2R3 型 MYB タンパク質の WEREWOLF (WER) が、*CPC* の転写を正に制御していることが分子遺伝学的解析から示唆されていたため、WER タンパク質と CWB 領域の結合を解析した。WER 組換えタンパク質を作製し、*in vitro* での WER タンパク質と CWB 領域との結合を調べた結果、結合が認められた。また CPCMB1 に塩基置換の入った DNA を用いた競合実験から、WER はこれらの配列を認識し、結合していることが示唆された。*CPC* タンパク質は WER とは異なるタイプの R3 型 MYB タンパク質であり、分子遺伝学的解析から *CPC* 自身の転写を負に制御していることが示唆されていた。*CPC* タンパク質と CWB 領域との結合を *in vitro* で検証したところ、結合しなかった。しかし、酵母 1-hybrid を用いた解析では、WER タンパク質と CWB 領域の結合が、*CPC* タンパク質を共存させると阻害されることを示唆する結果が得られた。このことから、*CPC* タンパク質は WER タンパク質の CWB 領域への結合を間接的に阻害することにより、自身の転写を負に制御していると考えられた。

3. *CPC* タンパク質の機能解析

WER タンパク質は GLABRA3 (GL3) などの bHLH タンパク質と酵母内で結合することが報告されており、転写因子複合体を形成していると考えられている。本研究は *CPC* タンパク質が GL3 と酵母内で結合できるかどうかを 2-hybrid 法で確認し、結合することを示した。このことから *CPC* タンパク質は WER と拮抗的に GL3 タンパク質と結合し、WER が形成するタンパク質複合体の機能を阻害していることが示唆された。また *CPC* は根毛形成の促進因子であるにも関わらず、非根毛形成細胞で転写が強い。そこでそのタンパク局在を GFP との融合タンパク質を用いて調べたところ、根毛形成細胞にも局在していることが示唆された。このことから *CPC* は非根毛形成細胞から根毛形成細胞へ細胞間移行して機能してい

ることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

木村（越野）泰裕氏の博士論文は、植物の細胞分化の分子機構について理解するために、根の根毛の分化過程に着目してそれを支配する制御タンパク質の機能をあきらかにしたものである。根の表皮細胞は、根毛形成細胞と非形成細胞の二種の細胞に分化する。つまり、表皮細胞は二者択一の運命決定をおこなうことになる。木村氏も加わったこれまでの研究から、根毛形成細胞への分化には CPC 遺伝子が必要であり、非形成細胞への分化には WER 遺伝子が必要であることがわかっていった。興味深いことに、WER 遺伝子と CPC 遺伝子は、将来非形成になる非形成予定細胞の中で発現し、根毛形成予定細胞の中では発現しない。この問題は、非形成予定細胞の中で合成された CPC タンパク質が隣接する根毛形成予定細胞内に移行し、根毛形成予定細胞の核内に留まって働くことが明らかにされて解決している。しかし、WER 遺伝子が CPC 遺伝子の発現を促進するなどの相互作用することが知られていたが、その分子機構は明らかにされていなかった。この問題は、なぜ根毛形成に必要な CPC 遺伝子が非形成予定細胞で特異的に発現するのか、との疑問に答えるためにも、重要な問題である。

木村氏は、まず CPC 遺伝子のプロモーター領域を調べ、その中に WER タンパク質が結合するシス制御配列があることを見だし、この配列が CPC 遺伝子の非形成予定細胞での特異的発現に必要かつ十分であることを示すとともに、この塩基配列に WER タンパク質が結合して CPC 遺伝子の発現を誘導・促進することを示した。また、CPC タンパク質が WER タンパク質のシス制御配列への結合を阻害することも示した。木村氏は、これらの結果から、非形成細胞における CPC タンパク質が合成を抑制するとともに、CPC タンパク質の細胞間移行によって、非形成細胞内での CPC タンパク質の蓄積が抑制され、そのために根毛形成細胞と非形成細胞の二者択一的な分化が生じるとのモデルを提案した。これらの成果は国際雑誌に掲載され、国際的に高く評価されている。なお、この研究分野は、近年激しい国際的な研究競争の下にあり、その中で上記の業績を上げたことは特筆される。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。また、論文内容に関連した事項について試問をおこない、合格と認めた。