

氏 名	う え だ み な こ 植 田 美 那 子
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2919 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 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	シロイヌナズナを用いた分裂組織の維持機構の研究

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

植物器官の大部分は、根端と茎頂にある分裂組織から発芽後に生み出される。分裂組織は内部の細胞配置を保ちながら細胞増殖を繰り返し、新しい細胞を供給する。シロイヌナズナの根では、静止中心と呼ばれる細胞群の周囲の細胞が協調的に分裂することで、分裂組織の細胞配置が維持される。茎頂においても、形成中心と呼ばれる細胞群に近接した細胞が規則的に分裂することで、組織の構造が保たれる。このような分裂様式は胚発生時のそれとは異なることから、胚発生時に分裂組織を作り上げる機構とは別に、発芽後に分裂組織を維持するための制御機構があると予想された。本研究の第一部では、分裂組織を維持する分子機構を明らかにすることを目指し、分裂組織の構造が発芽後に崩壊するシロイヌナズナの突然変異体 *halted root-1* (*hlt-1*) に着目して解析した。

形態観察の結果、*hlt-1* では胚発生時に形成された分裂組織の構造が、発芽後に崩壊することを見出した。また、胚発生過程で獲得された静止中心・形成中心の性質が発芽後に損なわれることも明らかになった。このことから、*HLR* 遺伝子は発芽後の分裂組織における細胞分裂パターンの制御と正常な静止中心・形成中心の維持に必須であると考えられた。また、*HLR* 遺伝子が特異的な標的タンパク質を分解するプロテアソームのサブユニット (RPT2) をコードすることを同定した。*HLR* 遺伝子は発芽後の分裂組織で強く発現し、*hlt-1* の分裂組織ではプロテアソーム活性が低下していた。しかし、プロテアソームによって分解される既知のタンパク質は、*hlt-1* においても分解されていた。このことから、*HLR* 遺伝子は全般的なタンパク質分解には必須でなく、未知の制御タンパク質群の分解を介して分裂組織の維持に必要であると考えられた。さらに、静止中心を含む組織で *HLR* 遺伝子を発現させると、*hlt-1* においても静止中心の性質と細胞配置の両方が回復することが判明した。したがって、発芽後の分裂組織では、静止中心や形成中心が未知の制御タンパク質群の分解を介して自身の性質と機能を維持し、それにより周囲の細胞の分裂パターンを制御することも強く示唆された。

第一部の解析から、分裂組織の維持機構は、胚発生過程における組織形成機構とは異なる分子基盤によること、およびこの維持機構にはプロテアソームが重要であることが明らかになった。プロテアソームが植物の発生に果たす役割をさらに理解するために、シロイヌナズナのゲノム上に一つ存在した *HLR* 遺伝子の相同遺伝子である *HLR-LIKE PROTEIN* (*HLP*) 遺伝子にも着目し、両遺伝子の役割の差異について第二部で検討した。*HLP* 遺伝子が欠損した突然変異体 (*hlp-1*) は何ら形態異常を示さないものの、*hlt-1* との二重突然変異体は配偶体致死になった。このことから、*HLR* 遺伝子と *HLP* 遺伝子はともに発生に寄与するが、分裂組織の維持には *HLP* 遺伝子ではなく *HLR* 遺伝子が必須であることが判明した。両者の発現様式とタンパク質機能を比較検討した結果、両遺伝子の役割の差異はタンパク質機能や発現パターンにではなく、発現レベルの差によって生じることも強く示唆された。本研究は、機能的に等価なタンパク質をコードする相同遺伝子が、発現レベルの差によって高等植物の発生において異なる役割を果たすことを示唆した初めての報告である。

論文審査の結果の要旨

申請者はモデル植物であるシロイヌナズナから根端の分裂組織組織が維持できない突然変異体を探索し、発芽後に根が伸長しない halted root (hlt) 突然変異体を分離した。この突然変異体では正常な根根端分裂組織が形成されるが、発芽後には根端分裂組織における規則的な細胞分裂がみられない。そのために、細胞の配列が崩れ、一部の細胞は壊死する。また、茎頂分裂組織の機能も阻害され、細胞の配列が乱れ、葉序が狂うなどの異常がみられる。根端分裂組織の活性を示すさまざまな遺伝子マーカーを用いた解析から、hlt 突然変異体では胚の形成には異常がなく、成熟した胚の根の分裂組織は正常であるが、発芽後十数時間後には根端分裂組織の機能が乱れてくること、特に根端分裂組織の中心的な役割を担っている静止中心細胞の働きがなくなることがわかった。

申請者は、hlt 突然変異体のこのような特徴的な性質は分裂組織の維持ができないためであると考え、HLR 遺伝子をクローニングし、HLR 遺伝子が細胞内のタンパク質分解装置であるプロテオソームのサブユニットの一つである RPT2 をコードしていることを見いだした。RPT2 遺伝子の異常はシロイヌナズナ細胞のタンパク質除去機能の低下をもたらしており、不要なタンパク質が蓄積することがわかった。

申請者は、分裂組織の維持には不要となったタンパク質の秩序だった分解が必要であり、hlt 突然変異体ではプロテオソーム活性が低下しているために、必要なタンパク質分解が滞っていると考え、静止中心細胞がその機能を維持するためにはタンパク質分解活性の維持が必要である、という新たなモデルを提唱した。申請者は、hlt 突然変異体の静止中心細胞に正常な HLR 遺伝子を発現させると突然変異形質が正常に復帰することを示す結果を得て、このモデルの正しいことを示した。このように、本申請論文は植物の成長の基本装置である分裂組織の維持機構について明確な結果を得たもので、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、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。