

氏 名	かとう たけ ひで 加 藤 壮 英
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2519 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 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	重力屈性と胚発生に關与するシロイヌナズナ <i>SGR2</i> (<i>SHOOT GRAVITROPISM2</i>) の分子遺伝学的研究

論文調査委員 (主 査) 教授 長谷あきら 教授 岡田清孝 教授 西村いくこ

論 文 内 容 の 要 旨

植物の茎や根は重力刺激に対してそれぞれ負または正の屈性反応(重力屈性)を示す。この反応に対して古くから多くの植物生理学的な研究がなされてきたが、その分子機構はほとんどわかっていない。本研究は、高等植物シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を材料に花茎の重力屈性反応の遺伝的制御機構を分子レベルで解明することを目的として行われた。

花茎の重力屈性反応に異常を示す新しい変異株 *sgr2* (*shootgravitropism2*) に対する10のアレルを単離し、まず、それぞれの花茎・胚軸・根の重力屈性反応を定量的に調べた。その結果、これらは全てシュート(花茎と胚軸)の重力屈性に異常を示すが根は正常な屈性を行う事を明らかにした。重力屈性反応は、重力の感受、シグナルの発生、シグナルの伝達、器官の偏差成長の4つの連続した過程に分けて考えられる。そこで、*sgr2*が正常な光屈性を行う事を実験的に示す事で、この遺伝子がシュートの重力屈性の初期の過程つまり重力感受かシグナルの発生に關与する事を示唆した。次に、*SGR2* 遺伝子を染色体上の位置を基にクローニングした。その結果、*SGR2* はリパーゼコンセンサス配列と予想膜貫通領域をもつ新規でありユニークなタンパク質をコードしており、このタンパク質はウシより単離されたホスファチジン酸選択的ホスホリパーゼ A1 (PA-PLA1) ともっとも高い類似性を示した。*SGR2* は調べた全ての器官で発現していた。そして、機能をもつ *SGR2* と GFP との融合タンパク質は液胞膜と小さなオルガネラに局在する事が観察された。植物の器官は、幾つかの組織(外から表皮・皮層・内皮・中心柱)が円筒状に配置して同心円状の分布を示す。シュートでは内皮細胞層並びに、この細胞中に存在する重力方向に沈降するアミロプラストが重力屈性に必須であり、この細胞が重力感受細胞と考えられている。*sgr2* のシュートの内皮細胞では、一部のアミロプラストが重力の方向に逆らって細胞の上部に存在していた。更に、内皮細胞の液胞膜の構造に異常が観察された。そこで、*sgr2* の内皮細胞層でのみ特異的に *SGR2* を発現させたところ、*sgr2* のシュートの内皮細胞内のアミロプラストの沈降異常と重力屈性異常が回復した。これらの結果より、シュートの内皮細胞で発現する *SGR2* 遺伝子がシュート重力屈性反応に必須である事が示された。そして、*SGR2* による液胞形成もしくは液胞膜の流動性の変化がアミロプラストの沈降に關与しており、内皮細胞層の液胞がシュート重力屈性反応の初期のステップに關与する可能性が初めて示された。

これとは別に、*sgr2* の芽生えにおいて子葉の枚数の異常・形態の異常・発芽しない種子など多様性に富む異常が観察された。そしてこの異常は、接合子(受精卵)の上部に異所的に存在する大きな液胞と、それに関連すると思われる受精卵の最初の細胞分裂における分裂面の位置の異常に起因する可能性が高い事を明らかにした。そして、この異常は初期胚でのみ見られ、ほとんどの胚ではそれ以降、この異常が回復して正常な芽生えを形成する可能性も示した。これによって初期胚のごく短期間に機能をもつ新しいカテゴリーの遺伝子を始めて記載した事になり、またこの論文は植物の胚発生における形態形成の可塑性に関する具体的な新しい事実の提示でもある。

論文審査の結果の要旨

植物は芽生えた場所の外環境の影響を受けながら生育する。植物の成長に大きな影響を及ぼす環境要因として光・温度・重力・水分・無機栄養分・他の生物などが知られているが、申請者は重力の影響を研究テーマとした。植物が傾くとシュート（胚軸や茎など）は上向きに、根は逆に下向きに曲る。この現象が重力屈性である。この現象は200年近く前から植物生理学の中心課題の一つとして多くの植物生理学者の興味を引き研究がなされてきた。しかし、この反応の分子機構は現在でもほとんど分かっていない。そこで申請者は、茎の重力屈性反応を分子レベルで解明することを目的として双子葉植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を材料に本研究をおこなった。

本論文では花茎の重力屈性変異株の一つである *sgr2* の解析が行われた。その結果、申請者は次の6点を明らかにした。1, この変異の原因遺伝子 *SGR2* はシュート（花茎と胚軸）の重力屈性に特異的に関与して根の重力屈性には関与しない。2, 重力屈性反応の初期過程である重力感受か信号発生過程に関与する可能性が高い。3, この遺伝子はホスホリパーゼ A1 をコードする可能性が高い。4, *SGR2* は全ての器官で発現し、このタンパク質は細胞内では液胞と小胞に局在する。5, *sgr2* において細胞内の液胞が形態異常を示すだけで無く、シュートの内皮細胞に存在して重力感受に関係する沈降性アミロプラストの分布と移動も異常を示す。6, シュートの内皮細胞で *SGR2* が発現していれば、*sgr2* 変異株でも正常な沈降性アミロプラストが存在して正常な重力屈性をおこなう。申請者はこれらの事実を基に、シュートの重力屈性の初期過程、つまり重力感受あるいはシグナルの発生過程で内皮細胞内の液胞とアミロプラストの関係が重要であるという新しい考え方を提示した。また、これまであまり注目されていなかったホスホリパーゼ A1 に関する変異株を動物や微生物を含めて始めて単離して解析する事で、この酵素の生理学的な研究を行う重要性を明らかにした。

申請者はさらに、*sgr2* の芽生え並びに胚発生過程を遺伝学的・細胞学的に観察する事で *SGR2* は受精卵中の液胞形成に一過的に作用する可能性を示した。そして、*sgr2* では初期胚において胚細胞中の液胞の存在様式や細胞分裂の異常が生じるが、以後の胚発生過程でこの異常が回復する事を示唆した。これらの観察結果から、申請者は胚発生の短期間に一過的に作用する新しいタイプの遺伝子の存在を示唆し、また胚発生が可塑性に富み初期胚に存在した異常がその後の発生過程で回復していく可能性について始めて具体的に言及した。

以上のように申請者は、基礎的なデータから着実に研究成果を積み重ね、それを基に茎の重力屈性や胚発生に対するこれまでと全く違った研究視点を確立した。今後この視点から重力屈性や胚発生の分子機構を明らかにすることが重要になると考えられこの論文の意義は高い。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る。

なお、主論文に報告されている研究業績を中心としてこれに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。