

論文内容の要旨

申請者氏名 家門 絵理

植物細胞壁は全ての細胞が持つ一次細胞壁と維管束木部道管細胞など一部の細胞で形成される二次細胞壁に大別される。木部道管細胞の二次細胞壁は特徴的なパターンで形成され、原生木部道管細胞ではらせん状のパターンが、後生木部道管細胞では網目状や孔紋状（ピット状）のパターンの二次細胞壁が沈着する。二次細胞壁パターンは道管の力学的特性や通水性を決定する重要な要因であり、その形成の制御機構を明らかにすることは重要である。これまでに、二次細胞壁沈着パターンは表層微小管のパターンによって決定されることが示されてきた。また、後生木部道管細胞のピット状パターン形成における表層微小管の制御機構についての研究が進む一方で、原生木部道管細胞のらせん状パターン形成の制御機構については未だほとんど明らかとなっていなかった。そこで本研究では原生木部道管細胞のらせん状パターン形成機構を明らかにするために化学生物学的解析を行った。所属研究室においては、原生木部道管細胞分化のマスター転写因子である VND7 の過剰発現により原生木部道管細胞に特徴的ならせん状の二次細胞壁パターン形成をタバコ培養細胞 BY-2 で誘導する道管細胞分化誘導系が開発されてきた。本研究ではこの系において、らせん状の二次細胞壁パターンを攪乱する化合物のスクリーニングを行った。その結果、sulfonamide 類化合物である sulfamethizole (SMZ) が二次細胞壁パターンを顕著に攪乱する化合物として単離された。さらに、SMZ が、分化誘導初期から表層微小管の湾曲を引き起こすこと、分化の進行に伴って微小管束同士の平行性の低下と分岐を引き起こすことを明らかにした。このことから、SMZ による二次細胞壁パターンの攪乱は微小管配向の攪乱に起因することが示唆された。さらに、SMZ は微小管の重合量に影響を与えず、道管分化誘導時に、微小管の重合速度の上昇と脱重合速度の低下を引き起こしうることが示唆された。また、微小管重合が異常となるシロイヌナズナ変異体 2 株と VND7-VP16-GR シロイヌナズナを交配し、得られたホモ接合体 F3 世代を用いて異所的な道管細胞分化誘導を行った結果、いずれでも SMZ 処理とは異なる二次細胞壁パターンの異常が引き起こされた。この結果から、SMZ による二次細胞壁パターンの攪乱はチューブリンそのものの構造変化に起因するものではないことが示唆された。

このように本研究から、正確ならせん状の二次細胞壁パターンの形成には、一次細胞壁形成時とは異なり、微小管が湾曲せずに束化することと適切な微小管ダイナミクス（おそらく、適切な微小管の重合と脱重合の速度）が重要であることが、示唆された。今後は、SMZ のターゲットの特定と詳細な作用機序の解析を通して、原生木部道管細胞のらせん状の二次細胞壁パターン形成の制御機構が解き明かされていくものと期待される。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 家門 絵理

道管細胞に形成される特徴的な二次細胞壁パターンは、道管の力学的特性や通水性を決定する上で重要な要因である。これまでに、二次細胞壁パターン形成の制御機構について、表層微小管に沿ったパターン形成が起こること、孔紋状（ピット状）パターンを持つ後生木部道管では表層微小管をピット（壁孔）領域から排除することが重要であること、などが明らかにされてきたが、らせん状パターンを持つ原生木部道管細胞におけるパターン形成の制御機構については未だほとんど明らかとなっていない。

申請者は、原生木部道管細胞のらせん状パターン形成機構を明らかにするために化学生物学的解析を行い、以下に示す新しい知見を得た。

1. 原生木部道管細胞分化のマスター転写因子である **VND7** の過剰発現により原生木部道管細胞に特徴的ならせん状の二次細胞壁パターン形成をタバコ培養細胞 **BY-2** で誘導する道管細胞分化誘導系を用いて、らせん状の二次細胞壁パターンを攪乱する化合物のスクリーニングを行い、**sulfonamide** 類化合物である **sulfamethizole (SMZ)** が二次細胞壁パターンを顕著に攪乱する化合物を単離した。
2. **SMZ** が、分化誘導初期から表層微小管の湾曲を引き起こすこと、分化の進行に伴って微小管束同士の平行性の低下と分岐を引き起こすことを明らかにした。このことから、**SMZ** による二次細胞壁パターンの攪乱が微小管配向の攪乱に起因することが示唆された。
3. **SMZ** が微小管の重合量に影響を与えず、道管分化誘導時に、微小管の重合速度の上昇と脱重合速度の低下を引き起こす可能性を示した。
4. 微小管重合が異常となるシロイヌナズナ変異体を用いて、**SMZ** による二次細胞壁パターンの攪乱がチューブリンそのものの構造変化に起因するものではない可能性を示した。

これらは、正確ならせん状の二次細胞壁パターンの形成に、微小管が湾曲せずに束化することと適切な微小管ダイナミクス（おそらく、適切な微小管の重合と脱重合の速度）が重要であることを初めて示した成果であり、今後、原生木部道管細胞のらせん状の二次細胞壁パターン形成の制御機構を明らかにする上で重要な知見である。

以上のように、本論文は、原生木部道管のらせん状二次細胞壁パターンの形成において、微小管重合の精緻な制御が重要であることを実験的に示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。