

論文内容の要旨

申請者氏名 古谷 育代

植物は基本的に左右対称あるいは放射対称になることが多いが、左右非対称の例もしばしば観察される。植物の左右非対称の例として、朝顔などの蔓植物の蔓の巻き方向が挙げられ、蔓のねじれの方向は種依存的にほぼ決まっている。また、ラン科のネジバナは花序がらせん状に配置されているが、らせんの方向は決まっていない。このように植物の左右性の決定メカニズムは偶然性による場合と遺伝的に決定された発生プログラムに依存する場合の両方が考えられる。現在、植物において左右の方向性を規定する遺伝子については全く知られていない。そこで、モデル植物であるシロイヌナズナの軸組織の伸長方向が異常になった突然変異体 *spiral1(spr1)* を用いて、植物細胞の伸長方向の制御機構の解明を試みた。

垂直に立てた寒天プレート上でシロイヌナズナの野生型の根は重力方向に伸長するが、*spr1* の根の表皮細胞は右巻にねじれているため上方から見て常に右方向に伸長する。*spr1* の黄化胚軸や暗所で成育した花茎の表皮細胞にも右巻のねじれが観察され、根と同様のねじれのメカニズムが存在すると考えられる。*spr1* の根や黄化胚軸の内部細胞は無方向に肥大し、野生型と比べて縦に短い細胞となっていた。そのため比較的正常な伸長をする表皮細胞が軸組織の長さを補正するために傾き、表皮細胞がねじれると考えた。また、*spr1* は温度感受性であり、14℃の低温条件では根と黄化胚軸のねじれが強調された。

古くから表層微小管の配向が細胞の伸長方向を決定すると提唱されており、植物細胞の伸長方向に対して、表層微小管が垂直方向に配向している例が多く報告されている。そこで、表層微小管の配向を調べたところ、野生型の根の伸長領域の表皮細胞の表層微小管は細胞の伸長方向に対して垂直に配向していたが、*spr1* では細胞の伸長方向に対して左巻きに配向していた。さらに微小管重合阻害剤プロピザマイドや微小管安定剤タキソールを低濃度添加した培地で成育すると、*spr1* 細胞は軸方向の伸長性を回復し、*spr1* のねじれ形質が消失した。

SPIRAL1 遺伝子を遺伝子地図に基づきクローニングした。5つの *spr1* アレルは全てヌル変異と考えられた。*SPR1* は 119 アミノ酸残基からなる植物特有の新規の低分子量タンパク質であった。また、アラビドプシスのゲノム配列中に 5つの相同性の高い遺伝子が存在した。

SPR1 プロモーターを用いて *SPR1* と GFP (Green Fluorescent Protein) の融合遺伝子をアラビドプシス植物体で発現させたところ、根と胚軸の表皮細胞において *SPR1*-GFP 融合タンパク質は繊維状に観察された。 α -tubulin と GFP の抗体を用いて二重染色したところ、*SPR1*-GFP と表層微小管は同じ位置に標識された。従って、*SPR1* の一部は表層微小管に局在することが示唆された。さらに *SPR1* の過剰発現植物体がプロピザマイドやタキソールに対し若干の耐性を示したことから、*SPR1* は細胞伸長の方向に対して垂直方向に配向する表層微小管を安定化している可能性を提唱した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 古谷 育代

植物界に於いてはつる、巻きひげ、花卉のねじれなどに右巻き・左巻きという左右性が見られるが、左右の方向性を規定する遺伝子については全く研究されていなかった。本論文ではモデル植物であるアラビドプシスを用いてねじれ現象の分子機構を解析している。軸組織の伸長方向が右巻きの方向性を示すねじれ突然変異体 *spirall(spr1)* のねじれ表現形の解析に基づきねじれモデルを提唱し、さらにクローニングした新規 *SPR1* タンパク質の機能を推定している。

まず、本論文では *spr1* 変異株のねじれ変異形質を詳細に解析し、次のようなねじれモデルを提唱している。伸長領域の *spr1* 軸組織では内部細胞層の細胞が無方向に肥大するのに対し、同じ領域の表皮細胞は長軸方向に細長く伸長する。従って、軸の内側と外側の細胞層間で長軸方向の長さの差が生じ、この差を補正するために表皮細胞が傾いて伸長する。このモデルは軸器官のねじれ現象をよく説明するものであり、アラビドプシスの他のねじれ変異株や自然界のねじれ器官にも適用することができる。しかし、このモデルではねじれの方向性は規定しておらず、方向性が決まっているねじれ現象に関してはこのモデルに方向性を規定する要因を追加する必要がある。

そこで、本論文では細胞の伸長方向が表層微小管の配向によって決定されるという可能性を検討し、*spr1* 変異株の伸長領域の表皮細胞では表層微小管が左巻きのヘリックス様のらせんを描いていることを見いだした。この発見に基づいて提唱されたねじれの方向性の表層微小管モデルは植物の軸器官の左右性を説明する唯一のものである。

最後に、本論文では *SPR1* 遺伝子をクローニングし、*SPR1* が植物特有の新規低分子量タンパク質であることを明らかにし、*SPR1* が表層微小管に局在する可能性を示唆している。近年、植物に於いても微小管に局在する微小管付随タンパク質 (MAP) がいくつか報告されるようになったが、*SPR1* は植物特有の新規 MAP である可能性がある。*spr1* 変異株の微小管配向から、*SPR1* は伸長細胞の表層微小管を細胞長軸に対し直角方向に配向、または維持するのに必要なタンパク質であると示唆される。このように微小管配向を制御する MAP は大変珍しく、本論文で明らかになった知見を基に微小管の配向制御機構の解析が今後益々進展するものと期待される。

以上のように、本論文は右巻きねじれ現象を分子遺伝学的・細胞生物学的に解析したもので、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。