

論文審査の結果の要旨

氏名 遠藤暁詩

本研究は、木部細胞分化過程で細胞外に分泌されるタンパク質、TED4 タンパク質の機能をプログラム細胞死と関連づけて解析したものであり、植物プログラム細胞死過程での加水分解酵素阻害剤としての細胞外タンパク質の本質的な役割を初めて明らかにしたものである。本論文は3章からなり、第1章は、TED4 タンパク質のタンパク質分解酵素阻害活性と TED4 タンパク質に結合するタンパク質の解析について、第2章は、第1章で明らかになった TED4 結合活性の見られたプロテアソームの管状要素分化過程での発現解析について、第3章では、細胞外でのプロテアソームと TED4 タンパク質の相互作用とその生理学的意味について、述べられている。

プログラム細胞死は動物と同様、植物においても正常な発生過程や、様々な外的ストレスに適応する上で欠くことのできない役割を担っている。この植物の細胞死プログラムに関しては、最近多くの研究が報告されてきているが、他の生細胞との関係はほとんど明らかでなかった。道管・仮道管を構成する管状要素の分化においては、細胞は自らを分解し中空の構造物となることで通道要素として機能する。この管状要素の細胞内容物の分解には、液胞崩壊の後に機能するいくつかのプロテアーゼやヌクレアーゼ等が関与していることが近年の研究から明らかにされつつある。これらの加水分解酵素は細胞死の後、細胞外へ放出され、他の細胞に傷害を与えると予想される。しかしながら、多くの細胞では影響を受けず生存し続ける。そこで、論文提出者はこの現象の基盤は、細胞死に先立ち細胞外に加水分解酵素阻害タンパク質を分泌することであると予想し、TED4 タンパク質を足がかりに、生細胞と死細胞の関連を明らかにすることを考えた。

まず、第1章では、TED4 タンパク質が、細胞死に伴い活性の上昇するプロテアーゼ活性を阻害するかどうかを確かめ、実際に阻害すること、さらにその

阻害活性はラクタシスチンと拮抗することを明らかにした。この結果は、TED4 タンパク質が、プロテアソーム活性を阻害していることを示唆した。また、TED4 タンパク質と結合する分子をアフィニティーカラムを用いて解析したところ、プロテアソームが特異的に結合することが示された。

第2章では、管状要素細胞死との関連が示唆されたプロテアソームが、分化過程でどのような挙動をするかをプロテアソームの C1 サブユニットの抗体を用いて解析した。その結果、プロテアソームは骨部分化過程でその量を増加させ、とりわけ、細胞死前の管状要素で大量に蓄積していることが明らかになった。

第3章では、第1章、第2章の結果を受けて、TED4 タンパク質とプロテアソームの細胞外での相互作用について解析した。まず、培地タンパク質から、抗体カラムを用いて TED4 タンパク質および TED4 結合タンパク質の単離を試みた。その結果、抗 TED4 抗体カラムに結合した画分に TED4 タンパク質とプロテアソーム C2 サブユニットが検出され、TED4 タンパク質とプロテアソームが培地中で複合体を形成することが示された。次に、TED4 タンパク質が培地中でプロテアソームのインヒビターとして機能しているか調べ、プロテアソームは活性を持った状態で管状要素から細胞内容物と共に漏出し、漏出したプロテアソームの活性は培地中に蓄積されている TED4 タンパク質によって阻害されていることを強く示唆した。最後に、TED4 タンパク質除去による非管状要素細胞のダメージを調べた結果、管状要素の自己分解過程において細胞内容物が漏出する際に、TED4 タンパク質はプロテアソームに対するインヒビターとして機能することで、周辺の細胞を損傷から守っていることが示唆された。

ここに得られた結果の多くは新知見であり、いずれもこの分野の研究の進展に重要な示唆を与えるものであり、かつ本人が自立して研究活動を行うのに十分な高度の研究能力と学識を有することを示すものである。よって、遠藤暁詩提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。