

論文審査の結果の要旨

氏名 河野 淳

本論文は2章からなる。第1章ではサイクリン D4 (CYCD4) の分子機能の解析について述べられている。まず、CYCD4 がサイクリンとして機能しうるか明らかにする目的で、酵母 G1 サイクリン欠損株 DL1 の相補実験を行い、CYCD4;1、CYCD4;2 共に相補能を有することを示している。次に昆虫細胞や植物細胞において、CYCD4 は CDKA の活性化能を有することを明らかにした。続いて、組織レベルでの *CYCD4* の発現部位を明らかにする目的で、プロモーター-GUS (*-glucuronidase*) の解析を行っている。その結果、*CYCD4* 遺伝子は子葉や根の中心柱をはじめ幅広い組織で発現することを示した。一方、*CYCD4;2* 遺伝子に関しては、茎頂、根端分裂組織の活発に分裂する細胞において *CYCD4;2* が発現しないという結果を示している。既知の植物 CYCD にはこのような発現様式を示すものは知られておらず、本研究の新規性を示すものと言える。

第2章では、植物個体発生における CYCD4 の機能について解析を行っている。まず、*CYCD4* をタバコ BY-2 細胞で過剰発現させたところ、細胞周期進行に全く影響を与えなかったことから、CYCD4;2 が活発に増殖している細胞において主要な役割を担っていないことを示唆している。*CYCD4* 過剰発現シロイヌナズナ植物体の核相を調べたところ、野生型との違いは検出されず、CYCD4 はエンドリデュプリケーションには関与しないと考えられることを明らかにした。先行する研究により、植物サイクリン D の過剰発現が植物細胞の細胞周期進行やエンドリデュプリケーションに影響を与えることが明らかにされており、本研究の結果は CYCD4 が他のサイクリン D とはかなり異なる機能を有している可能性を示唆した。その一方で、*CYCD4* の T-DNA 挿入変異体や過剰発現体は巨視的な表現型を示さないものの、胚軸気孔数が T-DNA 挿入変異体において減少し、過剰発現体では増加することを明らかにした。また、詳細な観察により過剰発現体において胚軸上部の気孔を形成する表皮細胞列で特異的に細胞分裂が亢進しており、*CYCD4* 過剰発現による細胞分裂の亢進が胚軸気孔形成と相関していることを見出している。一方、本葉における気孔形成に関しては、T-DNA 挿入変異体において気孔数の減少が見られないことから、内生の CYCD4 の本葉気孔形成への関与は弱いことを示した。気孔を生み出す細胞系譜にある細胞のマーカー遺伝子として *TOO MANY MOUTHS (TMM)* という遺伝子が知られているが、先行する研究は本葉の気孔形成に関するものであり、本論文において胚軸の気孔形成における *TMM* の発現についてプロモーター-GFP を用いた経時的な観察を行っている。その結果、本葉と同じく胚軸の気孔を形成する細胞系譜において *TMM* が発現していることを明らかにする一方、本葉とは異なりメリステモイドが伸長成長したのち分裂し、再びメリステモイドを生み出すと

いう現象は観察されず、胚軸気孔形成において self-renewal という性質を持つ細胞はメリステモイド以前の細胞であることを提唱している。この結果を基に *CYCD4;2* 過剰発現植物体での *TMM* の発現様式を観察し、発芽後の分裂亢進により生じたタンデムに並んだ小型の細胞において *TMM* の発現が観察されることを示した。これは *CYCD4* 過剰発現により、胚軸気孔形成における細胞系譜の中で self-renewal という性質を持つ細胞の分裂が顕著に活性化されたことを示している。また、胚軸気孔形成に關与するとされるジベレリンに関しては、*CYCD4* の過剰発現による分裂亢進がジベレリン非依存的であり、ジベレリン処理が胚軸気孔形成細胞系譜上の細胞の分化を促す作用があることを示唆する結果を示している。その上で、*CYCD4* 過剰発現体は胚軸気孔形成を促すジベレリンとエチレンの処理に高感受性であることを明らかにし、過剰発現体ではホルモン処理に感受性な幹細胞的な細胞が増加しているという解釈を示している。以上の結果から、*CYCD4* が胚軸気孔形成の細胞系譜において、self-renewal という性質を持つ幹細胞的な細胞の分裂を正に制御する因子であることを明らかにしたと言える。

本論文第1章は大野良子、原（梅田）千景、内宮博文、梅田正明との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。