

# 論文審査の結果の要旨

氏名 朽名 夏磨

本論文は4章からなり、第1章は生きた植物細胞における液胞構造の可視化系の確立、第2章は連続光学切片からの立体再構築法の開発、第3章は細胞周期の進行にともなう液胞構造の動態、第4章はミニプロトプラストの伸長誘導時における液胞構造の動態について述べられている。

高等植物の多くの細胞は、発達した液胞により体積の大半が占められ、周囲は堅い細胞壁によって覆われている。このうち液胞は、細胞質の増加に比べて少ないコストで体積を増すことができることから、液胞の吸水・膨張による巨大化が細胞の伸長や肥大における主要な手段となっている。しかしこれまで適切な観察方法がなかったことなどから、液胞自体の形態と、細胞の構造変化との関係はよくわかっていなかった。そのような状況下で、本論文は細胞分裂や伸長生長といった細胞に大きな形態変化がみられる現象における液胞構造の動態と役割を明らかにすることを目的として、タバコ培養細胞 BY-2 を用いて生細胞における液胞の形状や動態についての立体的および定量的な解析を行なったものである。

第1章では、生細胞の液胞を可視化するために、蛍光試薬を用いた液胞膜や液胞内腔の生体染色法を確立した。また、シロイヌナズナの AtVam3p に GFP を融合したタンパク質を恒常的に発現する BY-2 の形質転換細胞を作出し、GFP 蛍光が液胞膜に局在することを確認し、BY-GV と名付けた。これらの可視化系の確立により、液胞構造について連続光学切片や動画像などの多様な顕微鏡画像を得ることができるようになった。

第2章では、顕微鏡画像からの立体再構築や形態計測を行なうために、連続光学切片からの立体再構築・解析システム REANT を独自に開発した。とくに格子形成のアルゴリズムを新たに考案することで、光学切片間の距離が大きな場合に他手法より正確な立体再構築法を提案した。原形質分離を対象に REANT で解析した結果、原形質分離時の急速な細胞体積の減少が液胞の収縮によって起こること、原形質分離時には液胞膜が巨大液胞内腔に陥入して楕円状構造を形成することなどが示された。

第3章では、このようにして整備した一連の手法を駆使した細胞分裂時の液胞構造の解析について示された。M 期において分裂装置周囲の細胞質中に、チューブ状の液胞膜の構造が現れることが発見され、TVM と名付けられた。TVM は、G<sub>2</sub> 期終わりから M 期にかけて核周辺の細胞質中に出現して分裂装置を取り囲むようになること、M 期後期から終期にかけて分裂面近傍にも侵入して娘核の周囲を取り囲むこと、細胞板形成にともなう切断され娘細胞へ分配されること、G<sub>1</sub> 期初めに娘核と細胞板の間にある TVM が巨大液胞へ発達することがわかった。とくに細胞質分裂前後の TVM の分布については、フラグモプラスト微小管による遠心的な細胞板形成に続いて TVM が細胞板近傍に集積

し、G<sub>1</sub>期初めに速やかに膨張・融合し巨大液胞へ発達することが、微小管との同時観察や一細胞の経時的な立体構造解析から明らかになった。

第4章では、植物細胞の伸長生長の物理的な実体である巨大液胞について、その形成されるようすが解析された。そのためにまず、巨大液胞を除去したミニプロトプラストからの巨大液胞再生と伸長生長の誘導系が確立された。そして巨大液胞再生前に細胞全体に細かな網状の液胞構造が展開することが判明した。本論文は液胞再生過程を、培養開始直後でミニプロトプラスト内に残った液胞が偏在した段階、細胞内全体に網状液胞が展開した段階、網状液胞の太さが均一のままで全体が膨張した段階、そして巨大液胞が一部再生した段階へとそれぞれ分類し、立体構造解析と定量的形態解析を行った。その結果、巨大液胞の再生過程では単に液胞が吸水膨張するだけでなく、膜面積の増加が起こることが明らかになった。とくに液胞形態の定量的指標を新たに定義し量的関係を調べた結果、まず膜合成が優先して網状液胞を展開し、次いで吸水膨張が起こって巨大液胞へと発達することがわかった。

総合すると、細胞分裂やミニプロトプラストの伸長生長にともなって、チューブ状・網状の液胞構造が時期特異的に展開することが明らかとなった。こうしたチューブ状・網状の液胞構造は細胞分裂後や細胞伸長における液胞の膨張過程の先駆けと考えられる。これらの結果は、植物細胞の形の変化を実現するために不可欠な因子としての、液胞構造とその分布の重要性を具体的に示すものである。

なお、本論文は、熊谷史、佐藤雅彦、桧垣匠、大窪恵美子、佐野俊夫、馳澤盛一郎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なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。