

論文審査結果の要旨

氏名 清水 隆

本論文は、5章からなる。第1章はイントロダクションであり、第2章はオーキシン独立栄養のタバコ培養細胞2B-13の分泌する新奇細胞分裂誘導因子の精製とその同定、更に糖タンパク質であると判定されたその因子のアミノ酸部分配列の決定について述べられている。第3章は、この因子の糖鎖種類の推定とアラビノガラクトナンタンパク質の性質を持つことの解析、更にその生物学的意義を明らかにしている。第4章は、通常のオーキシンを要求するタバコ細胞株BY-2も同様な糖タンパク質を細胞外へ分泌するが、精製したところ2種類の糖タンパク質が同定され、その分子サイズは2B-13細胞のそれとは異なることを述べており、第5章は全体のまとめである。

本研究では、植物細胞の細胞分裂においてオーキシンに替わる細胞分裂効果を持つ新奇高分子糖タンパク質をオーキシン独立栄養株2B-13の細胞培養濾液中に同定した。その精製の各段階において、オーキシン飢餓状態では分裂を停止する通常のタバコ培養細胞BY-2を用い、細胞分裂が停止したBY-2細胞に細胞分裂誘導活性の付与することを生物学的指標とする生物検定法を用いた。精製した糖タンパク質は、オーキシン飢餓で分裂停止したBY-2細胞の細胞分裂を誘導した。なお、2B-13細胞は、BY-2細胞よりオーキシンを加えない培地でも増殖する細胞株として選抜された細胞株である。細胞分裂誘導因子は、細胞外濾液を回収し、凍結乾燥法で固形成分を集め、それをヒドロキシアパタイトカラム、ConAセファロースカラム、セファデックスゲル濾過カラムクロマトグラフィーをこの順序で通過させて精製した。その結果精製された糖タンパク質のアミノ酸の部分配列は、MALDI TOF MS/MS法により決定した。そのアミノ酸配列はABCトランスポーターの範疇に入り、その中ではPGPタンパク質とよばれる一群のタンパク質の一つであることを同定したが、膜貫通ドメインは欠如し

ていた。一方、糖鎖部分は、マンノース、ガラクトースタイプであり、糖タンパク質全体ではアラビノガラクタンタンパク質と判定される特性を持っていることを明らかにした。植物細胞がオーキシシンに対して独立栄養になる、いわゆる馴化(habituation)は、1942年に R. Gautheret により発見されたが、その分子的レベルの解析はこれまで全くなされておらず、未知のままであった。今回の研究の結果は馴化に関する初めての分子レベルでの説明であるといえ、この点に最も重要な意義がある。

なお、BY-2 細胞の細胞培養濾液中にも類似の糖タンパク質が複数存在することがわかったので、2B-13 細胞の濾液に適用した方法と同様な手法で精製したが、精製された 2 種類の糖タンパク質は、それぞれが独立にオーキシシン飢餓 BY-2 細胞の細胞分裂を誘導した。ところが、これらの糖タンパク質はいずれも 2B-13 細胞より精製された糖タンパク質とは分子サイズが異なっていた。更に、オーキシシン飢餓になった BY-2 細胞の細胞外濾液には最初この細胞分裂誘導因子は存在せず、オーキシシンを加えて後に初めてこの因子が検出されることから、オーキシシンと馴化とこの細胞分裂誘導因子との間にある関係があることを推定させることが出来たので、その生物学的意義を考察した。

なお、本論文第 2 章は、江口健太郎、西田生郎、Kris Laukens、Erwin Witters、Harry Van Onckelen、長田敏行との共同研究であり、第 3 章、第 4 章は長田敏行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。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。