

# 論文審査の結果の要旨

氏名 郷 達明

本論文はシロイヌナズナの Rab5 GTPase の活性化制御因子 (グアニンヌクレオチド交換因子, GEF) である VPS9a と VPS9b について研究されたものであり, 2 章から構成されている。

第 1 章は, VPS9a について述べられている。低分子量 GTPase である Rab GTPase は, 活性型である GTP 型と不活性型である GDP 型をサイクルしながら, 小胞輸送過程における小胞の繫留, オルガネラの動態, シグナル伝達などを制御する分子スイッチとして機能している。シロイヌナズナには 57 種類の Rab GTPase が存在しており, このうちエンドソームに局在する Rab5 は, エンドサイトーシス経路において重要な役割を担っていると考えられている。シロイヌナズナには, ARA7, RHA1, ARA6 の 3 つの Rab5 メンバーが存在する。ARA7 と RHA1 は動物の Rab5 と構造的に類似しており, オルソログと考えられる。一方, ARA6 は構造的に特徴のある植物特異的な Rab5 メンバーである。Rab5 の機能にとって, GDP 型から GTP 型への活性化が非常に重要であり, この過程は GDP と GTP の交換反応を促進する GEF によって厳密に制御されている。本論文において, VPS9a が 2 つのタイプの Rab5 メンバーを両方ともに制御する GEF であることが明らかにされた。これが植物の Rab GTPase に対する GEF についての初めての報告である。VPS9a の機能が完全に欠損した *vps9a-1* のホモ変異体は, 魚雷型胚で胚発生が停止し, 胚致死であった。このことから, VPS9a による Rab5 メンバーの活性化は植物において重要な役割を担うことが示唆された。*vps9a-1* 変異体では, 細胞分裂の方向や細胞板形成に異常がみられ, 細胞の肥大や細胞膜と近接する多胞化した異常なオルガネラが多数観察された。このことから, Rab5 メンバーの活性化が細胞板の形成や細胞膜上の多胞化したオルガネラの形成に重要であることが示唆された。また, 弱いアレルである *vps9a-2* では, 主根の伸長に異常を示した。*vps9a-2* の主根の伸長異常は, ARA7 の GTP 固定型の過剰発現によって抑圧されたが, 植物特異的な ARA6 の GTP 固定型の過剰発現は顕著な影響を示さなかった。逆に ARA6 の欠損変異によって抑圧された。このことから, 2 つのタイプの Rab5 メンバー間には機能的な分化が存在していることが明らかとなり, むしろ, 拮抗的に機能していることが明らかになった。さらに, 拮

抗的に機能する2つのタイプの Rab5 メンバーが同一の GEF によって制御されることは非常に興味深い。これまでシロイヌナズナの Rab5 GTPase のそれぞれの単独変異体は顕著な表現型を示さないことから、植物体における Rab5 メンバーの機能は不明なままであった。本研究から、VPS9a によって制御される2つのタイプの Rab5 メンバーが拮抗的に機能することが、植物の発生分化に重要であることが明らかになった。

第2章は、VPS9b について述べられている。VPS9b は VPS9a とアミノ酸配列は非常によく似ているにもかかわらず、VPS9a に比べて Rab5 に対する GEF 活性は弱い。VPS9a は植物体全体で発現しているのに対して、VPS9b は花粉と胚のう特異的に発現していた。*vps9b* 単独変異体は顕著な表現型を示さなかったことから、VPS9b は花粉や胚嚢で限られた機能を担っていることが示唆された。そこで、*vps9a-1(+/-)vps9b-1(-/-)* を作成し、そのさやを開いて観察した。その結果、褐色に変色し胚致死となる種子の割合が、*vps9a-1 (+/-)* では約 25% 観察されたが、*vps9a-1(+/-)vps9b-1(-/-)* では、約 12% しか観察されなかった。このことは、*vps9a-1* と *vps9b-1* の両方の変異をもつ花粉では、受精する確率が *vps9b-1* のみの変異をもつ花粉よりも低下していることが示唆された。以上の結果より、VPS9a と VPS9b の2つの Rab5 GEF により制御される Rab5 メンバーの活性化が花粉の機能に重要であることが示唆された。

なお、本論文第1章は、内田和歌奈博士、荒川聡子助教、伊藤瑛海氏、臺信友子氏、海老根一生氏、竹内雅宜助教、佐藤健准教授、上田貴志准教授、中野明彦教授との共同研究であり、また、第2章は、砂田麻里子氏、上田貴志准教授、中野明彦教授との共同研究であるが、どちらも論文提出者が主体となって分析及び検証をおこなったもので、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（理学）の学位を授与できると認める。