

論文審査の結果の要旨

氏名 小林 裕樹

本論文は、植物の細胞間相互作用に関わる分泌型糖タンパク質、xylogen の遺伝子群について、ゲノムワイドな解析と、網羅的な発現解析を行うことで、その進化的かつ生物学的な位置づけを明らかにしたものである。同時に、細胞学的な挙動について解析を進め、その機能は複数の調節により行われることを明らかにしている。本論文は5章からなる。第1章では、研究の背景として植物における細胞間相互作用についての知見がまとめられ、これと関連付けて研究の意義と目的が記されている。第2章では本研究で使われた材料および方法が記述されている。第3、4章は研究の結果とその考察であり、第3章では、xylogen 様遺伝子のゲノムワイドな解析とその網羅的な発現が、第4章では、xylogen 様遺伝子の1種であり、道管形成の誘導的な細胞間シグナル因子として働くと予想される、AtXYP2 の細胞内、細胞外での挙動について解析された。そして、研究全体の総括が第5章に記されている。

高等植物の細胞分化は周囲の細胞からのシグナルに大きく依存している。このような分化運命の決定に関わる因子として、ヒヤクニチソウ管状要素分化系から道管の分化を誘導するタンパク質 xylogen が単離されてきた。xylogen は脂質と結合する lipid transfer protein (LTP)構造、糖鎖修飾を受けるアラビノガラクトタンパク質(AGP)構造、C末端側にはグリコシルホスファチジルイノシトールによって膜に繫留される構造(GPI アンカー)を持っており、分化途中の細胞から分泌されることにより周囲の細胞を道管細胞へと分化させる。このユニークな構造を持つ遺伝子は、そのホモログがシロイヌナズナにあることが分かっているものの、同様な構造を持つ遺伝子の生物界全体における分布、機能、発現、作用機作などについて、これまでほとんど解析されていなかった。そこで、論文提出者は、xylogen 様遺伝子群の構造と発現を網羅的に解析するとともに、その作用機作について、細胞生物学的に解析した。

論文提出者は、xylogen 様遺伝子の検索を行い、シロイヌナズナゲノム中に13種の類似遺伝子が存在することを見いだした。また、ゲノムワイドな解析により、これら xylogen

様遺伝子は、進化的にはコケ類から存在し、陸上植物に広く存在する遺伝子群であることを明らかにした。この遺伝子群の特徴は LTP 様ドメインにあり、この構造は広い生物種に保存され、典型的な LSTP1 や LSTP2 とは異なる構造であった。さらに論文提出者は、シロイヌナズナ 13 種の xylogen 様遺伝子の発現を、GUS レポーター遺伝子形質転換植物および半定量的 RT-PCR を用いて調査した。その結果、これらの xylogen 様遺伝子が多様な発現パターンを示すことが明らかとなり、xylogen 様遺伝子が機能的に多様である可能性を示唆した。以上の結果は、xylogen 様遺伝子を網羅的に解析した世界初の成果として高く評価された。

次に、論文提出者は、シロイヌナズナ中で主に xylogen としての機能を担っていると考えられる AtXYP2 の GFP 融合タンパク質を用いて、xylogen 分子の挙動を詳細に解析した。その結果、AtXYP2 プロモーターのみでは根の維管束全体に発現が誘導されるのに対し、AtXYP2 との融合タンパク質では発現が根端付近に限定され、AtXYP2 は転写後制御によって発現領域の限定化を行うことを示唆した。また、AtXYP2-GFP は、根の分裂領域から分化領域に移るにつれて、木部前駆細胞から前形成層細胞へと発現が変わり、また、分化領域では、木部分化に先立って細胞膜係留型から分泌型へと変換することが明らかになった。この挙動は木部分化と密接に関連しており、xylogen が成熟型のタンパク質として機能するために、GPI アンカーに基づいた分泌制御が存在することを明らかにした。細胞外への輸送は、小胞輸送の阻害剤である BFA の添加によって凝集すること、TGN マーカーの SYP43 と共局在することから TGN を介した分泌経路で輸送されていることが示された。以上の結果は、植物の細胞外シグナル分子の機能化に向けて、転写、転写後、細胞膜からの遊離と複数の制御プロセスのあることを細胞レベルで示した初めての成果として高く評価された。

なお、本論文に記載された研究は本瀬宏康、岩本訓知、福田裕穂氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上、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、小林裕樹提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。