

# 論文審査の結果の要旨

氏名 浅岡 凜

本論文はシロイヌナズナの細胞内輸送制御因子 RABA1 GTPase の研究についてまとめられたものであり、3章からなる。

第1章は序論であり、細胞の生命活動における細胞内輸送の重要性、細胞内輸送の特異性を決める制御因子、その進化が細胞内輸送経路網に与える影響などについて概説されている。

第2章は RABA1 メンバーのシロイヌナズナにおける役割について述べられている。シロイヌナズナのゲノム中には RAB GTPase をコードする遺伝子が 57 個存在し、そのうち 26 遺伝子が RAB11 グループ (RABA1~RABA6) に分類される。一方で、酵母・動物では RAB11 グループに属する遺伝子はごく少数であることから、植物において RAB11 グループは独自の進化を辿り多様化したと考えられる。これまでに、RABA2、RABA4 サブグループのメンバーについてはそれぞれ細胞板形成、根毛や花粉管の伸長に関与するという報告があるものの、植物 RAB11 の役割についての包括的理解には程遠いのが現状である。本論文で扱われるシロイヌナズナ RABA1 サブグループは RABA1a から RABA1i の 9 メンバーで構成され、RAB11 の中で最大のサブグループでありながら、これまであまり研究が進んでいなかった。本論文においては、RABA1 サブグループのメンバーがどのような細胞内輸送経路に関与するのか、また、どのような高次生命現象に関与するのかについて調べられている。まず、シロイヌナズナの根端を用いてネイティブプロモーター制御下で蛍光タンパク質融合 RABA1b の詳細な局在観察をおこなったところ、RABA1b はトランスゴルジネットワーク (TGN) 近傍のドット状のオルガネラおよび小さく動きの非常に活発な小胞様の構造に局在した。また、細胞膜方向への分泌経路で機能することが知られている VAMP721/722 とは非常によく共局在した。さらに、恒常的活性型変異体である RABA1b<sup>Q72L</sup> は細胞膜に局在することから、RABA1b が TGN と細胞膜間の輸送を担っていると考えられた。また、RABA1b の局在する小胞のダイナミックな運動はアクチンに沿ったものであり、アクチン繊維の重合を阻害すると完全に失われることから、運動がアクチン繊維依存的であることも明らかになった。次に、RABA1 サブグループの 9 メンバーのうち植物体全体で発現が見られる 4 メンバーをノックアウトした *rab1a rab1b rab1c rab1d* 四重変異体を作成し、その表現型について述べている。通常の生育条件下では野生型に比べほんの少し根が短いという以外は目立った異常は見られなかったが、各種ストレス条件下での表現型解析をおこなったと

ころ、NaCl や KCl を添加した塩ストレス条件において、野生型に比べ顕著に生育阻害が見られた。この表現型は、4 メンバーのうちのいずれかを発現させることによって相補された。このことから 4 メンバーが冗長的に機能し、塩ストレス耐性に関与していることが明らかになった。一方、代謝されない糖類ソルビトールを添加し塩ストレス培地と同等の浸透圧を与えた培地での表現型を観察したところ、生育阻害は見られなかったことから、生育阻害の原因は高浸透圧ではないこともわかった。さらに原因を探るため、野生型と四重変異体の塩ストレス条件下におけるナトリウムの蓄積量を比較したところ、両者に有意な差は認められなかった。また、ナトリウムの蛍光プローブ **Sodium Green** で細胞内のナトリウムを可視化すると、野生型も変異体も同様に、過剰の塩処理に応じてナトリウムを液胞に蓄積する様子が観察された。これらの結果から、四重変異体において、ナトリウムの取り込み、排出および細胞内での分配に異常がないことがわかった。これは、**RABA1** メンバーの関与する塩ストレス耐性がナトリウムに対する直接的応答ではなく、何らかの別のメカニズムによって実現されていることを示唆している。本章の一連の研究成果は、植物の **RAB11** が植物の形態形成だけでなくストレス耐性に関与することを示す初めての知見となり、**RAB11** の機能の多面性が示唆された。

第 3 章は総合討論であり、植物の細胞内輸送研究における本研究の位置づけおよび今後の展望について議論されている。

なお、本論文第 2 章は、植村知博助教、井藤純博士、伊藤瑛海博士、藤本優博士、上田貴志准教授、中野明彦教授、西田翔博士、藤原徹教授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。