

## 学位論文審査の結果の要旨

### Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏 名/Name	FIROSE HOSSAIN MD										
審査委員 Examining Committee	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Chief Examiner 主 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">中川 強 (署名)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">明石 欣也 (署名)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">松井 健二 (署名)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">西村 浩二 (署名)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">蜂谷 卓士 (署名)</td> </tr> </table>	Chief Examiner 主 査	中川 強 (署名)	Assistant Examiner 副 査	明石 欣也 (署名)	Assistant Examiner 副 査	松井 健二 (署名)	Assistant Examiner 副 査	西村 浩二 (署名)	Assistant Examiner 副 査	蜂谷 卓士 (署名)
Chief Examiner 主 査	中川 強 (署名)										
Assistant Examiner 副 査	明石 欣也 (署名)										
Assistant Examiner 副 査	松井 健二 (署名)										
Assistant Examiner 副 査	西村 浩二 (署名)										
Assistant Examiner 副 査	蜂谷 卓士 (署名)										
題 目 Title	<p>Targeted expression of <i>bg123-D</i> a dominant-negative allele of <i>ATCSLD5</i> and expression analysis of plant intracellular Ras-group-related leucine-rich repeat (LRR) proteins (PIRLs) in <i>Arabidopsis thaliana</i>  (シロイヌナズナにおける <i>ATCSLD5</i> のドミナントネガティブアレルである <i>bg123-D</i> の標的発現と植物細胞内 Ras グループ関連ロイシンリッチリピート (LRR)タンパク質(PIRL)の発現解析)</p>										
審査結果の要旨 (2,000字以内) /Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)											
<p>植物表皮に存在する気孔は、光合成や蒸散など植物におけるガス交換の通路として重要な機能を担っている。気孔を形成する孔辺細胞は、原表皮細胞、メリステモイド、孔辺母細胞を経て発達する。メリステモイドは非対称分裂により自己再生と表皮細胞生成を繰り返し、その後孔辺母細胞に転換する。孔辺母細胞は対称分裂を1回だけ行い2個の孔辺細胞を生じる。シロイヌナズナを用いた解析により転写因子、リガンド、受容体など気孔発生や分布の制御に働く多くの因子が同定されているが、気孔形態を制御する因子はほとんど見出されていない。申請者は気孔形態構築に興味を持ち、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究を進めた。その結果セルロース合成酵素様タンパク質 D5 (ATCSLD5) の新規ドミナントネガティブアレルを見出し、同アレルを特異的に発現させその効果を調べる研究を進めた。また、花粉形成など多様な機能を有し、プロモーターの利用も期待される植物細胞内 Ras グループ関連ロイシンリッチリピート (LRR) タンパク質 (PIRL) 遺伝子ファミリーの研究も進めた。</p> <p>申請者は、顕微鏡スクリーニングにより孔辺母細胞の細胞質分裂が阻害されベーグル状の気孔が形成されるドミナント変異体 <i>bg123-D</i> を単離し、次世代 DNA シークエンサーを用いた Bulk Segregant Analysis によって <i>ATCSLD5</i> 遺伝子に変異を見出した。ATCSLD5 についてはその遺伝子破壊株が孔辺母細胞細胞質分裂異常を示すことが報告されており、また野生株に <i>bg123-D</i> 変異型 <i>ATCSLD5</i> cDNA を導入したところ孔辺母細胞細胞質分裂表現型が出現したため、<i>bg123-D</i> が <i>ATCSLD5</i> の新規ドミナントネガティブアレルであると結論された。タバコアグロインフィルトレーションによる細胞内局在解析では <i>bg123-D</i> タンパク質が ATCSLD5 タンパク質と同様にゴルジ体に局在することが観察され、変異により細胞内局在は変化していないことが示された。次いでドミナントネガティブアレルであることを利用し、様々なプロモーターを用いて細胞・組織特異的に <i>bg123-D</i> を発現させ、標的部位における ATCSLD5 を阻害する実験が行われた。標的として <i>bg123-D</i> 変異体が表現型を示す気孔、<i>bg123-D</i> 変異体が表現型を示さない根端や葯・花粉での <i>bg123-D</i> cDNA 発現が行われた。気孔発達中に発現する気孔系譜プロモーター (<i>ProSDD1</i>, <i>ProMUTE</i>, <i>ProFAMA</i>) では <i>bg123-D</i> 変異体と同様に気孔で表現型が観察された。また葉の裏面で特異的に発現することが知られている <i>FIL</i> 遺伝子プロモーターを用いた場合、気孔表現型が葉の裏面でより高頻度に観察された。これらの結果は、ATCSLD5 が細胞質分裂時に細胞板に局在して細胞板形成に関わる、という報告と合致していた。根端 (<i>ProATSPI46</i>) では表現型は観察されな</p>											

かった。一方、*bg123-D*変異体では正常な葯・花粉において、*ProATSPI46*および*ProSPI1*形質転換植物ではエキシパターンと花粉発達の異常が観察された。この結果より花粉形成で未知の ATCSLD が機能しており、同 ATCSLD が *bg123-D* に阻害されたことが示唆された。また未知の ATCSLD が ATCSLD6 であることが推測された。気孔系譜プロモーターで *bg123-D* cDNA を発現させた形質転換植物では、成長促進も観察された。葉表皮細胞のサイズが増加していることが見出され *bg123-D* が細胞サイズに影響することが考えられた。今後さらに多様なプロモーターで *bg123-D* cDNA 発現実験を行うことで ATCSLD 遺伝子群の機能解析が進展すると期待された。

シロイヌナズナには9種の *PIRL* 遺伝子が存在し、それらのうち *PIRL1*, 2, 3, 6, 9が配偶体形成に関わることが報告されている。申請者はこれら *PIRL* 遺伝子群のプロモーターを利用することを着想し、promoter:GUSによる発現解析を行なった。その結果、栄養器官および生殖器官における同遺伝子群の発現パターンが明らかとなった。また、機能未知であった *PIRL7* が花粉と花粉管で発現し、花粉や花粉管の発達に働くことも示唆された。

以上のように申請者は *ATCSLD5* 遺伝子のドミナントネガティブアレルである *bg123-D* 変異を見出し、*ATCSLD* 遺伝子機能解析における新たなツールとして有効に利用できることを示した。また *PIRL* 遺伝子の発現解析を行い、多様なプロモーターリソースとして利用できることを明らかにするとともに、*PIRL7* が花粉・花粉管の発達に関わる可能性を新たに示唆した。これらのことより、本委員会は本論文を学位論文として十分価値があるものと判断した。