

学位論文審査の結果の要旨

氏名	MOSTAFA AHMED ABOULELA MOHAMED
審査委員	<p>主査 中川 強 (印)</p> <p>副査 赤間一仁 (印)</p> <p>副査 松井健二 (印)</p> <p>副査 明石欣也 (印)</p> <p>副査 西村浩二 (印)</p>
題目	Analysis of pollen development and pollen wall formation in <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. (シロイヌナズナにおける花粉発達と花粉表層形成に関する研究)
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>花粉は植物の生殖に重要な役割を果たしている。花粉は雌しべの柱頭に付着すると発芽し花粉管を伸ばす。花粉管により精細胞は胚珠へと導かれ、受精が成立して次世代の種子が形成される。花粉は葯室内で発達する。花粉母細胞は減数分裂を行って四分子となり、さらに表層構造が発達して花粉が形成される。花粉の表層構造はエキシンと呼ばれ、その材料であるスポロポレニンが葯室最内層のタペート細胞が分泌・供給する。このように花粉はそれ自身とタペート細胞の協調により発達する。エキシンは花粉を保護する重要な役割を持ち、また種特異的な模様を作るため分類にも利用される。申請者は花粉、特にエキシン形成に興味を持ち、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究を進めた。エキシン形成に関わる新規遺伝子の単離に成功し、また、エキシン形成における小胞輸送因子の重要性を明らかにすることとなった。</p> <p>シロイヌナズナのエキシンは網目構造を持つ。申請者は走査型電子顕微鏡を利用して多数の変異シロイヌナズナの花粉観察を行い、エキシン形成が異常な変異体を多数単離した。次いで次世代 DNA シークエンサーによる解析を行い、変異遺伝子のマッピングと同定を行った。原因遺伝子の半数程度は既知のものであったが、新奇遺伝子も得られ、エキシン形成に関する新たな知見を得ることができた。</p> <p>細胞の分泌経路の初発である ER からゴルジ体へのタンパク質輸送は Coat Protein Complex II (COPII) に覆われた小胞によって行われる。COPII は低分子量 GTP 結合タンパク質 SarI と 2 種類のタンパク質複合体、Sec23/24、Sec13/31 複合体から構成される。SarI が GTP と結合して活性化され ER 膜に結合し、これを目印にして Sec23/24 複合体が集合する。この際小胞内に積荷タンパク質も捕らえられ、出芽前複合体が形成される。さらに出芽前複合体が Sec13/31 複合体により架橋されることで膜の湾曲が進み小胞が出芽する。本研究室ではシロイヌナズナ Sec24 ホモログが花粉および胚嚢の発達に必須であることを示してきた。また他研究グループによりシロイヌナズナ Sec31 ホモログがエキシン形成に必須であることが報告されている。申請者は花粉発達における COPII の働きをさらに解明するため、Sec23 に着目して解析を行った。シロイヌナズナには Sec23 ホモログが 7 種存在する。それぞれの T-DNA 破壊株を調べたところ、2 種の破壊株でエキシンの網目が粗くなる表現型が観察された。また、それらのうち一方の破壊により花粉発芽率が半分程度に低下した。さらにこれらの 2 重破壊株を作製したところ、花粉が殆どできず稔性が大幅に低下する表現型が見られた。透過型電子顕微鏡により花粉とタペート細胞の発達を解析したところ、花粉は四分子までは異常は見られず、2 重破壊株</p>	

で 2 核期以降に異常となることがわかった。2 重破壊株では同時期にタペート細胞の形態異常、内部のタペトソームやエライオプラストの形態異常も観察された。タペート細胞はこれらオルガネラの機能を通じて花粉表層形成に必要な成分を分泌・供給している。そのため、2 種の Sec23 ホモログがタペート細胞の分泌経路初期段階で機能し、それぞれがエキシンプターン形成に働くこと、また冗長的に花粉形成に働くことが明らかとなった。また、花粉発芽に特異的に働く Sec23 ホモログが存在することも明らかになった。花粉の発達において、タペート細胞でこれら Sec23 ホモログによって小胞輸送されるタンパク質や化合物が重要であることが示された。

申請者は上記 Sec23 ホモログの詳細な細胞内局在解析のため、2 遺伝子をクローニングできる新たなバイナリーベクターの開発も行った。同システムは Gateway クローニングを活用したもので、プロモーターと CDS を任意に組み合わせて 2 組クローニングできるシステム、NOS プロモーター発現ユニットを 2 組クローニングできるシステム、の 2 種類が開発された。いずれも多様な蛍光タンパク質・エピトープを CDS に付加することが可能である。気孔発達ステージ特異的プロモーターとオルガネラ標的シグナルを使用したモデル実験、BiFC モデル実験により同システムの有用性が明らかとなり、植物研究における重要なツールとなることが示された。

以上のように申請者は多数の花粉変異体のスクリーニングと原因遺伝子同定、花粉形成における Sec23 ホモログの機能解析、詳細な局在解析に有効な植物用 2 遺伝子クローニングシステムの開発を行った。これらの成果は植物の生殖に関して重要な知見をもたらし、また多彩な植物形質転換実験への道を拓いた。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。