

# 論文内容の要旨

申請者氏名 安達 澄子

植物の発生過程において秩序立った組織や器官を形成するためには、細胞増殖や成長の制御が不可欠である。細胞分裂は mitotic cycle により制御され、細胞成長は多くの場合 endocycle に伴って起こるが、いずれの場合も細胞周期制御因子が必要とされる。細胞周期は、進化的に保存されたサイクリン/サイクリン依存性キナーゼ (CDK) 複合体より制御される。植物の場合は、A 型および B 型 CDK (CDKA、CDKB) が直接に細胞周期を制御すると考えられている。CDKA が酵母 Cdc2/Cdc28p の機能的オルソログで細胞周期を通じて発現するのに対し、CDKB は植物特異的な CDK で S 期終盤から M 期にかけてのみ発現し、アミノ酸配列により B1 と B2 型の 2 つのサブタイプに細分されるが、これらの CDK の発現制御や外的シグナルへの応答の分子機構については十分な解析が行われていない。

シロイヌナズナ *CDKA;1* の植物組織における発現制御の解析のために、プロモーター解析を行った結果、当該プロモーターには組織特異性の低い転写活性化領域の他にも、組織特異性を有する転写活性化領域が存在する事を明らかにした。また、シロイヌナズナの *CDKB2* にはタンパク質分解において機能することが知られる PEST モチーフ様の配列が見出されたのに対し、*CDKA* や *CDKB1* には見出されなかった。実際に、当研究により *CDKB2* がユビキチン-プロテアソーム経路によるタンパク質分解により制御されることが示唆された。

酵母や動物細胞においては、DNA 損傷チェックポイント機構により適正に DNA が複製され娘細胞へ分配される事が知られている。これらの生物では DNA 損傷に応答して細胞周期を停止させるために重要な因子がいくつか単離されているものの、植物はそれらに対応するオルソログのうち多くを欠いており、植物に特異的な DNA 損傷ストレス応答機構が存在する可能性が考えられた。当研究により、シロイヌナズナでは DNA 二重鎖切断 (DSB) が mitotic cycle を抑制し DNA 倍数性を増加させることが明らかになった。加えて、核 DNA 量の増加にも関わらず動原体数が増加しなかったことから、DSB は mitotic cycle から endocycle への転換を引き起こす事が示唆された。また、*CDKB2* 発現が DSB に応答して抑制されたのに対し、*CDKA* と *CDKB1* については顕著な変化が見られなかった。マイクロアレイ解析の結果、G2/M 期遺伝子の多くで発現が抑制されることが見出され、endocycle が DSB により誘導される事が支持された。さらに、DNA 損傷シグナル伝達因子の変異体を用いた解析により、DSB による endocycle の誘導に必要な因子を同定した。これらの結果は、DNA 損傷ストレスに対する植物特異的な生存戦略の一端を明らかにすると共に、mitotic cycle から endocycle への転換を制御する分子機構についても示唆を与えるものである。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 安達 澄子

植物の発生過程において秩序立った組織や器官を形成するためには、細胞増殖や成長の制御が不可欠である。細胞分裂は mitotic cycle により制御され、細胞成長は多くの場合 endocycle に伴って起こるが、いずれの場合も細胞周期制御因子が必要とされる。細胞周期は、進化的に保存されたサイクリン/サイクリン依存性キナーゼ (CDK) 複合体より制御される。植物の場合は、A 型および B 型 CDK (CDKA、CDKB) が直接に細胞周期を制御すると考えられている。CDKA が酵母 Cdc2/Cdc28p の機能的オルソログで細胞周期を通じて発現するのに対し、CDKB は植物特異的な CDK で S 期終盤から M 期にかけてのみ発現し、アミノ酸配列により B1 と B2 型の 2 つのサブタイプに細分されるが、これらの CDK の発現制御や外的シグナルへの応答の分子機構については十分な解析が行われていない。

シロイヌナズナ *CDKA;1* の植物組織における発現制御の解析のために、プロモーター解析を行った結果、当該プロモーターには組織特異性の低い転写活性化領域の他にも、組織特異性を有する転写活性化領域が存在する事を明らかにした。また、シロイヌナズナの *CDKB2* にはタンパク質分解において機能することが知られる PEST モチーフ様の配列が見出されたのに対し、*CDKA* や *CDKB1* には見出されなかった。実際に、当研究により *CDKB2* がユビキチン-プロテアソーム経路によるタンパク質分解により制御されることが示唆された。

酵母や動物細胞においては、DNA 損傷チェックポイント機構により適正に DNA が複製され娘細胞へ分配される事が知られている。これらの生物では DNA 損傷に応答して細胞周期を停止させるために重要な因子がいくつか単離されているものの、植物はそれらに対応するオルソログのうち多くを欠いており、植物に特異的な DNA 損傷ストレス応答機構が存在する可能性が考えられた。当研究により、シロイヌナズナでは DNA 二重鎖切断 (DSB) が mitotic cycle を抑制し DNA 倍数性を増加させることが明らかになった。加えて、核 DNA 量の増加にも関わらず動原体数が増加しなかったことから、DSB は mitotic cycle から endocycle への転換を引き起こす事が示唆された。また、*CDKB2* 発現が DSB に応答して抑制されたのに対し、*CDKA* と *CDKB1* については顕著な変化が見られなかった。マイクロアレイ解析の結果、G2/M 期遺伝子の多くで発現が抑制されることが見出され、endocycle が DSB により誘導される事が支持された。さらに、DNA 損傷シグナル伝達因子の変異体を用いた解析により、DSB による endocycle の誘導に必要な因子を同定した。

以上のように、本論文は植物細胞周期の制御機構のみならず植物特異的な生存戦略についても示唆を与えるもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。