

論文内容の要旨

申請者氏名 高塚 大知

植物の生活環は主に配偶体形成、胚発生そして発芽後の発生から構成される。これらの発生ステージが正常に進行していくには、正常なタイミングおよび場所で細胞分裂が調節されることが必要である。このような植物の発生過程で根源的な役割を持つ細胞周期進行というイベントは、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)の活性によって制御されている。CDKが最大活性を持つにはCDK活性化キナーゼ(CAK)による活性化が必要である。シロイヌナズナのゲノム中にはCDKD(CDKD;1~CDKD;3)とCDKF(CDKF;1)の2タイプのCAKが存在する。また、CAKはCDKの活性化により細胞周期の進行を制御するだけでなく、RNAポリメラーゼII(RNAPII)の活性化を介して基本転写の制御も行うことが明らかになっている。申請者は、4種のCAKが細胞周期制御と基本転写制御を介してそれぞれどのように植物の発生過程に関与しているかを明らかにすることを目的としてCAKのT-DNA挿入変異体の解析を行った。その結果、*in vitro*で最も高いCAK活性を示すCDKF;1のノックアウト変異体である*cdkf;1*変異体では発芽後の成長過程において顕著な細胞分裂の阻害と細胞伸長の抑制が観察された。一方、*cdkf;1*変異体では成熟胚に顕著な異常は認められず、胚発生以前の発生は正常に進行していたことから、CDKF;1は胚発生においては必須な因子でないことが明らかになった。さらに、CDKF;1の*in vivo*での分子機能は細胞周期進行を直接的に制御するCDKAやCDKBの活性化ではなく、基本転写を制御するCDKD;2のタンパク質の安定性制御であることが明らかになった。また、*cdkd;1 cdkd;3*二重変異体は配偶体致死であることが明らかになった。相互交雑試験を行なったところ、*cdkd;1 cdkd;3*二重変異体は雄性および雌性配偶体形成のいずれにも異常をきたしていることが明らかになった。つまり、雄性配偶体形成時には花粉内有糸分裂が正常に進行せず、雌性配偶体形成時には核分裂が正常に進行しないことが示された。このような表現型はCDKA;1のノックアウト変異体の表現型と類似している点があり、CDKD;1とCDKD;3がCDKA;1の活性化を行うCAKである可能性を示唆するものであると考えられた。このように、本研究によりCDKF;1とCDKD;1、CDKD;3が植物の発生過程で機能分化していることが明らかになった。この機能分化がどのように確立されているかを明らかにするため、発現解析とプロモータースワッピング実験を行った。その結果、CAKの機能分化は発現様式の分化と分子機能の分化という2つの側面から確立されていることが示された。このような異なるCAK間の機能分化は酵母や動物では見られないことから、植物の発生過程において柔軟かつ厳密な細胞分裂制御を支える精密な分子機構の一つであると考えられた。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 高塚 大知

植物の生活環を構成する配偶体形成、胚発生および発芽後の発生はいずれも細胞分裂を伴う発生過程であり、細胞周期の正常な進行が不可欠であることが知られている。また、胚発生時および発芽後の発生における植物の各器官の形成には、分裂組織における細胞分裂と細胞分化の厳密な制御が必須である。細胞周期の進行にはサイクリン依存性キナーゼ(CDK)の活性が必須である。動物と違い移動することのできない植物にとって、環境に適応しながら発生を制御していくことは非常に重要であり、CDKの活性は動物以上に厳密かつ柔軟に制御されている可能性がある。申請者が本研究で着目したCDK活性化キナーゼ(CAK)はCDKの活性化に不可欠である。また、CAKはCDKの活性化を通じて細胞周期の進行を制御するだけでなく、RNAポリメラーゼII(RNAPII)の活性化を介して基本転写の制御も行うことが知られている。植物には4種のCAK(CDKD;1, CDKD;2, CDKD;3 および CDKF;1)が存在し、1種類もしくは2種類しかCAKを持たない動物や酵母に比べ多くのCAKを持つことから、植物では複数のCAKによりCDKの活性や基本転写の活性が精密に制御されている可能性が予想された。申請者はモデル植物のシロイヌナズナを材料に、CAKのT-DNA挿入変異体を用いて、複数のCAKによるCDKと基本転写制御を介した植物独自の発生制御メカニズムに関して画期的な成果を挙げた。まず、申請者は変異体の解析から、1)CDKF;1がCDKD;2タンパク質の安定化を介した基本転写の制御を行うことで植物の発芽後の成長を制御する一方、配偶体形成や胚発生には必須の働きを持たないこと、2)CDKD;1とCDKD;3が協調的に配偶体形成を制御していることを明らかにした。1)は、*in vitro*で最も高いCAK活性を示すCDKF;1が全てのCDKを活性化する主要なCAKであるというこれまでの予想に反し、CDKF;1の*in vivo*での分子機能はCDKD;2タンパク質の安定性制御であり、細胞周期を制御するCDKAやCDKBの活性化はCDKF;1以外のCAKによって行われることが明らかにした新規性の高い結果である。また、2)で明らかにしたCDKD;1とCDKD;3の配偶体形成における機能はCDKAのそれと類似しており、CDKD;1とCDKD;3がCDKAの活性化を担うCAKである可能性が考えられた。このように申請者の解析により、CAK間で発生過程に応じた機能分化の存在が示された。さらに申請者は、このCAKの機能分化が発現領域の分化と分子機能の分化によって決定されていることを明らかにした。

以上のように、本論文は動物や酵母には見られない、細胞周期制御と基本転写制御を介した植物独自の発生制御機構の存在を初めて明らかにしたもので、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。