

Studies of RAB GTPases in the basal land plant, *Marchantia polymorpha*

その他のタイトル	基部陸上植物ゼニゴケのRAB GTPaseの研究
学位授与年月日	2018-03-22
URL	http://doi.org/10.15083/00077984

論文審査の結果の要旨

氏名 南野 尚紀

本論文は基部陸上植物であるゼニゴケを用いた RAB GTPase (以下 RAB) の研究についてまとめられたものであり、イントロダクション, 3章からなる主編, ディスカッションからなる。

イントロダクションでは, 真核生物における膜交通と, その制御因子である RAB, これまでの膜交通の多様化機構に関する知見, 本研究におけるゼニゴケの位置づけについて述べられている。

第 1 章はゼニゴケの RAB の網羅的な解析について述べられている。ゼニゴケのゲノムデータベースの検索の結果, 17 種類の RAB が同定された。この数はシロイヌナズナの RAB の数と比べて非常に少ないものの, 緑色植物がもつ基本的な RAB のセットについては, 冗長性の低い形で保存されていた。一方, シロイヌナズナではみられない RAB が存在した。MpRAB2b は鞭毛内輸送を制御する IFT43 に類似した配列をもつ。このような構造をもつ RAB はこれまでのところ他の真核生物にはみられず, タイ類で新規に獲得された RAB である可能性が示唆された。また, 緑色植物のいくつかの系統で二次的に失われた RAB である RAB21 と RAB23 も存在していた。RT-PCR による組織別の発現パターンの解析から, 多くの RAB は広い範囲の組織で発現していたが, MpRAB2b および MpRAB23 は雄性生殖器官で特異的に発現していた。さらに, 蛍光タンパク質を融合させた RAB について, 葉状体における細胞内局在の観察が行われた。本章の一連の研究結果は, ゼニゴケが RAB の多様化の進化的意義を明らかにする上で優れたモデルになることを明らかにしたという点で, 非常に重要な成果である。

第 2 章は MpRAB21 の機能解析について述べられている。MpRAB21 は MpRAB5 や MpARA6 と同じ後期エンドソームに局在していた。また, MpRAB5 および MpARA6 の活性化因子である MpVPS9 が, MpRAB21 の活性化因子として機能することも示された。作出された *Mprab21* 変異体の観察から, MpRAB21 は葉状体の正常な生育に必須であることが示された。各オルガネラマーカールおよび染色試薬を用いた観察の結果, *Mprab21* 変異体では後期エンドソームに異常がみられた。また, 液胞輸送経路, エンドサイトーシス経路, および通常分泌経路には異常がみられない一方で, 細胞膜タンパク質の局在や細胞外マトリックスの分布に異常がみられた。このことは, MpRAB21 が後期エンドソームから直接細胞膜へ向かう輸送経路において機能する可能性を示している。MpRAB21 の共免疫沈降と

それに続く質量分析の結果から、レトロマーと相互作用して協調的にはたらく可能性が示された。本章の一連の研究成果は、これまで不明であった植物における RAB21 の機能の一端を明らかにしただけでなく、エンドソーム周辺の膜交通経路網の多様化を考察する上で、きわめてインパクトのある発見である。

第 3 章はゼニゴケの精子形成過程におけるオルガネラ動態と MpRAB23 の機能解析について述べられている。先行研究および発現パターンから、MpRAB23 は、鞭毛をもつ雄性配偶子である精子で機能することが予想された。まず、精子形成過程でのオルガネラおよび鞭毛関連因子のマーカの観察が行われ、精子変態期で細胞自立的な分解系の亢進が起こっていることが明らかになった。作出された *Mprab23* 変異体は、上記のマーカを用いた観察では目立った異常はみられない一方で、精子の運動性および細胞体の形態に異常がみられた。透過型電子顕微鏡による観察から、軸糸および多層構造体に異常がみられ、MpRAB23 がそれらの正常な形成に必須であることが示された。また MpRAB23 およびその恒常活性型の局在から、MpRAB23 が鞭毛に局在する可能性が示唆された。さらに MpRAB23 の局在や機能には MpRAB23 に存在するドメイン構造が重要であることが示唆された。本章の一連の研究成果は、これまで動物においても未解明な点が多かった RAB23 の分子機能について新たな知見を示すとともに、陸上植物における生殖様式の変化と RAB23 の喪失との関連を示した、重要な結果である。

ディスカッションでは、本編の研究結果の総括と、今後の展望について述べられている。

なお、本論文第 1 章は、金澤建彦博士、恵良厚子博士、海老根一生博士、中野明彦博士、上田貴志博士との共同研究、第 3 章の一部は、金澤建彦博士、西浜竜一博士、大和勝幸博士、石崎公庸博士、河内孝之博士、中野明彦博士、上田貴志博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。