

# 論文審査の結果の要旨

氏名 室 啓太

細胞がクラスリン小胞を介して、細胞外や細胞膜上の物質を取り込む機構をクラスリン介在性エンドサイトーシス（以後エンドサイトーシス）と呼ぶ。本論文は、モデル植物シロイヌナズナを用いた遺伝学的解析に基づき、エンドサイトーシスにはたらく ANTH ドメインタンパク質が、花粉管伸長において重要な役割を担うことを初めて明らかにしたものである。本論文は3章からなる。第1章は序論、第2章は結果、第3章は考察である。材料と方法、図表、文献は、これらとは別にまとめて記載されている。

第1章ではまず、細胞におけるエンドサイトーシスの意義と分子機構、とくにエンドサイトーシスの開始に当たってクラスリン被覆小胞の形成にはたらく ANTH ドメインタンパク質について、分子機能や構造、他の分子との相互作用が詳述されている。次に、哺乳類の ANTH ドメインタンパク質が4種類であるのに対し、モデル植物のシロイヌナズナは18種もの ANTH ドメインタンパク質をもつことが述べられ、植物細胞においては ANTH ドメインタンパク質がエンドサイトーシスにおいて、より多様な役割を担っている可能性が論じられている。続いて、シロイヌナズナにおける ANTH ドメインタンパク質の研究の現状に関して、一部の ANTH ドメインタンパク質について、エンドサイトーシスへの関与が示唆されているものの、分子機能と生理機能のいずれも解析が進んでおらず、その原因の一端は ANTH ドメインタンパク質ファミリーの拡張によって起きた機能的重複のために、欠損変異の影響が捉えにくいことにある、との認識が示されている。これを踏まえて、ANTH ドメインタンパク質遺伝子の多重欠損変異体を作成することで、ANTH ドメインタンパク質の植物の生殖における役割を突き止めるに至った、本研究の着想の経緯が説明されている。

第2章では、本研究の結果が順を追って記述されている。最初に、シロイヌナズナの ANTH ドメインタンパク質遺伝子の多重欠損変異体を作成して表現型を解析した結果、ANTH ドメインタンパク質のうちの2つ、PICALM5a と PICALM5b を欠く二重変異体では長角果が短くなっており、その詳細な解析により、長角果の異常が、雌蕊の先についた花粉が伸びず、花粉管の伸長不全に起因することが示されている。また、PICALM5a と PICALM5b の発現部位と細胞内局在を調べたところ、両タンパク質とも

成熟花粉と花粉管で発現し、花粉管では頂端よりやや根元（垂頂端）の領域の細胞膜に局在すること、その領域では PICALM5a とクラスリン軽鎖タンパク質 CLC1 が共局在することが述べられている。さらに、花粉管の細胞膜に存在し、花粉管伸長に関わる CLC1 や受容体キナーゼの ANX1、ANX2 の局在に対する *picalm5a picalm5b* 変異の影響の検討から、ANX1、ANX2 の花粉管頂端部への局在に PICALM5a、PICALM5b の機能が必要であること、この機能が ANX1・ANX2 選択的であること、この ANX1・ANX2 の局在異常が *picalm5a picalm5b* の花粉管伸長不全の原因であると考えられることが示されている。

第3章では本研究で得られた結果に関して、主にエンドサイトーシスの意義の観点から、花粉管の先端成長における ANTH ドメインタンパク質の役割に対する考察がなされている。まず、伸長中の花粉管においては、細胞膜成分などが活発な小胞輸送によって、垂頂端部から頂端部に供給されていることが、これまでの知見から述べられている。その上で、本研究の結果に基づき、ANTH ドメインタンパク質の PICALM5a と PICALM5b が、ANX タンパク質などの特定の細胞膜タンパク質の特異的アダプターとして機能し、それらの花粉管垂頂端部におけるエンドサイトーシスの促進を介して、花粉管頂端部への局在を実現し、先端成長の維持に寄与している、という結論が導かれている。

本研究で得られた知見は、植物 ANTH ドメインタンパク質の役割を明らかにしただけでなく、花粉管の先端成長を支えるタンパク質の局在制御機構に関し新しい枠組みを提示した点で独創的であり、当該分野に対して多大な貢献をなすものと言える。

なお、本論文に記載された研究は、時田久美（日本学術振興会特別研究員）、塚本涼子（名古屋大学大学院理学研究科技術補佐員）、金岡雅浩（名古屋大学大学院理学研究科助教）、海老根一生（基礎生物学研究所助教）、東山哲也（名古屋大学大学院理学研究科教授）、中野明彦（東京大学大学院理学系研究科教授）、上田貴志（基礎生物学研究所教授）との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および論証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。