

# 論文審査の結果の要旨

氏名 間宮 章仁

本論文は5章からなる。第1章は序論、第2章は結果、第3章は考察、第4章は材料と方法、第5章は文献である。

第1章では、研究の背景と目的が述べられている。冒頭で植物の体制構築における器官形成の意義と器官発生時の細胞分裂制御の重要性を論じた後、器官形成のモデルとして側根形成を取り上げ、これまでの細胞学的知見と分子生物学的知見をまとめるとともに、側根形成開始時の細胞分裂活性化が詳しく調べられているのに対し、その後の細胞分裂の協調的調節、とくに分裂域の制限のしくみはよくわかっていない、との見解を示している。次に植物のミトコンドリアについて、エネルギー供給装置としてのはたらき、複雑なRNAプロセッシングに依存した遺伝子発現のあり方、ミトコンドリア関連変異が発生・成長に及ぼす影響を概説した上で、器官発生の制御におけるミトコンドリアの役割が未解明であることを指摘している。続いて、高温下で帯化側根を形成するシロイヌナズナの温度感受性変異体 *rrd1*、*rrd2*、*rid4*

(temperature-dependent fasciation にちなみ TDF 変異体と総称) を紹介し、先行研究に基づいて、側根原基形成初期の細胞分裂の制限に関わること、*RRD1* がポリ A 特異的リボヌクレアーゼ様タンパク質、*RRD2* と *RID4* がペントトリコペプチドリピートタンパク質をコードしていること、いずれもミトコンドリアのRNAに作用すると思われることなどを述べている。そして最後に、以上を踏まえて、側根形成初期過程における細胞分裂の調節機構を明らかにするために、TDF 変異体を用いた解析を進め、併せて植物の器官形成とオルガネラのRNAプロセッシングの未知の連関を捉える、という本研究の目的を記している。

第2章では、TDF 変異体を糸口に、側根形成初期過程とミトコンドリアのRNAプロセッシングに関し、多角的に解析した結果が述べられている。ポリ A 分解に関わると推定された *RRD1* については、*rrd1* 変異によるポリ A 化ミトコンドリア mRNA の増大を複数の方法で確認し、ポリ A 付加酵素の変異 *ags1* が *rrd1* に対して抑圧的効果を示したことと合わせて、推定機能の検証としている。RNA 編集への関与が推定された *RRD2* と *RID4* については、*rrd2*、*rid4* の各変異体と野生型との間でミトコンドリア mRNA の塩基配列の徹底した比較を行うことで、推定機能を検証している。その結果、*rrd2* では *ccb2* の 71C と *ccb3* の 575C の 2 個所、*rid4* では *atp4* の 395C など計 6 個所に

顕著な編集不全を検出し、上流域の比較分析も踏まえて、RRD2 と RID4 はこれらの個所を直接の標的として編集にはたらくと結論している。また、ミトコンドリア電子伝達系のタンパク質の解析から、*rrd2* ではシトクロム *c*、*rid4* では ATP 合成酵素複合体が減少することを明らかにしている。さらに *rrd1* と *ags1* を用いた解析により、*ccb3* の全体的な編集レベルおよびシトクロム *c* の蓄積量がポリ A 付加と負に相関していることも発見している。薬理的解析では、電子伝達や ATP 合成の阻害剤は側根原基の幅を拡大するのに対し、脱共役剤にはそのような効果がないこと、活性酸素種 (ROS) を生成する薬剤は原基幅を拡大し、ROS 除去剤はこの拡大を抑えることを示し、ROS の関与を強く示唆している。

第3章では、考察と結論、今後の展望が述べられている。全ての結果を考え合わせ、TDF 変異から側根帯化までの流れとして、ミトコンドリア mRNA のプロセッシングの不全が電子伝達系の不具合をもたらし、産生した ROS が側根原基辺縁部の細胞分裂を過剰にする、という仮説を提示し、加えて RNA のポリ A 付加状態と編集とを結びつける分子機構が存在する可能性も論じている。

第4章には研究に用いた植物材料と各種解析の方法が詳述されており、第5章では引用した文献の情報が示されている。

研究全体を通して得られた成果は多大であり、植物の器官形成時の細胞分裂制御とミトコンドリアの RNA プロセッシングの係わりについて、重要かつ画期的な新知見を提供している。本論文は、これらの成果を正確な図表と明快な英文で記述している。結果の考察では、丁寧な論考により合理的な結論が導かれている。また、当該分野の文献は、不足なく適切に引用されている。

なお、本論文に記載された研究は、大塚蔵嵩、小西美稲子、野崎守、木下温子、玉置裕章、有田真規、齊藤真人、山本荷葉子、蜂谷卓士、野口航、上田貴志、八木祐介、小林健人、中村崇裕、佐藤康、平山隆志、杉山宗隆の各氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験・解析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。