

氏名(本籍)	鳥居啓子(神奈川県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第1,049号		
学位授与年月日	平成5年1月31日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	Cell Differentiation of the Outermost Cells of Developing Endosperm in Carrot (ニンジン胚乳の最外層細胞における細胞分化)		
主査	筑波大学教授	理学博士	藤伊正
副査	筑波大学教授	理学博士	堀輝三
副査	筑波大学助教授	理学博士	鎌田博
副査	筑波大学助教授	理学博士	沼田治

論 文 の 要 旨

被子植物の種子形成過程では、胚発生や胚乳形成、およびそれに伴う母胎側組織(珠皮・珠心)の退縮等、起源や機能の異なる組織の発生・分化および退化が連続的に進行する。徐々に分裂する胚と異なり重複授精の結果起こる胚乳形成は、植物種によって多様ではあるが、その多くは、はじめに核分裂を起し多核胚乳(シンシチウム)ででき、ある時期に急速に細胞壁合成が起こり細胞性胚乳が形成するといった特徴的なものであると知られている。子葉に貯蔵物質を蓄積する『無胚乳種子』においても、種子形成過程で一過的に上記の胚乳の形態変化が起こると分かっている。次世代を担う胚に比べ、胚乳に関する研究は、その主たる機能である貯蔵物質の蓄積及びその制御にほぼ限られており、細胞性胚乳の形成過程に関する生化学的実験は行われていなかった。

細胞性胚乳の形成機構を明らかにしていくためには、まず、形成過程の生化学的解析や関与する遺伝子産物の同定が必須である。この様な観点から、本論文では、材料としてニンジン(*Daucus carota* cv. Kurodagosun)を用い、胚乳形成時に特異的に出現するタンパク質を検出し、その発現の解明と機能の推測を行っている。同時に、組織化学的手法を用いて細胞性胚乳の形成過程を解析し、胚乳組織における最外層細胞の生化学的分化を発見している。

本論文では、まず、開花-完熟までのニンジン果実の成長曲線の作成と内・外部形態の観察を行ない、果実形成過程における総タンパク質のパターン変化を電気泳動法により比較し、急速な胚乳形成が起こる時期に一過的に出現する分子量80kの糖タンパク質(GP80)を検出している。秕(しいな)や部位分けした果実の電気泳動パターンの比較から、GP80は未熟種子中に存在することを示し、GP80を精製し生化学的特性を調べ、この糖タンパク質は、1)高マンノース型糖鎖を持ち、2)

塩可溶性でNaCl存在下ではモノマーの形状を取るが、3) 生体中では凝集しているか或は細胞壁等に結合していると思われる、と結論している。

次に、G P 80の精製標品を用いて抗体を作製し免疫学的解析を行ない、本糖タンパク質が未熟種子中のみに存在し、かつ胚由来ではないことを明示している。さらに、細胞性胚乳の形成に伴い出現するサブタイプG P 78についても解析を行っている。G P 80とG P 78は、1) 抗原性が同一、2) N末部位のアミノ酸配列と少なくとも1つの内部ポリペプチドのアミノ酸配列が同一、3) ポリペプチド部分の分子量が同一であるため、両者間の2 kの分子量差は糖鎖の違いに起因すると推察し、また、双子葉植物の他科・属の未熟胚乳中にも類似タンパク質が存在する可能性も示している。

さらに、免疫組織化学的手法を用い、G P 80・G P 78の局在部位を解明している。G P 80の存在時期には胚乳は空洞組織 (central cavity) の周縁部に形成されたばかりであるが、G P 78の出現時期には空洞組織は細胞性胚乳で満たされていることを示し、胚乳の様相が大きく異なっているのにも関わらず、G P 80とG P 78は常に胚乳最外層に局在することを明らかにしている。本結果は、胚乳形成におけるG P 80・G P 78の時期・空間的のみならず胚乳形態依存的である大変ユニークな発現様式を明らかにしていただけだけではなく、それら糖タンパク質が胚乳最外層の一貫した機能に関わる可能性を示唆している。

最後に本論文では、上記の観点からニンジン胚乳最外層の特徴を組織化学的に解析している。著者はいまだ未報告であったニンジン種子貯蔵タンパク質の同定を行い、その胚乳中の局在を調べ、種子貯蔵タンパク質は胚乳最外層に存在しない事、また、胚乳細胞のプロテインボディー中に含まれるシュウ酸カルシウム結晶も、胚乳最外層に存在しない事を明らかにしている。G P 80・G P 78の局在と併せて考え、胚乳最外層は他の内部の細胞と生化学的に大きく異なり、貯蔵物質を蓄積する以外の役割を有する可能性を示している。さらに、種々の組織染色を行い、形成途中の胚乳最外層ではRNA量が極めて高いことも見出している。これは、細胞性胚乳形成のinitiation citeである最外層が、その後も分裂組織としての活性を保持する可能性を推察させる。本研究結果は、双子葉植物の胚乳最外部の生化学的分化を新たに示したものであり、G P 80を含む最外層のRNA翻訳産物の更なる解析を通して胚乳形成における最外層の役割を明かにしていく事が出来ると考察している。

審 査 の 要 旨

本研究は、胚乳形成という生理・生化学的研究の極めて難しい過程を解析するための糸口を作った点で大きな価値がある。また、細胞性胚乳形成過程に関する生化学的解析は、最も研究が進んでいると思われる単子葉植物イネ科においてもこの一、二年の内に行われたに過ぎず、本研究の先駆性・独創性は高く評価できる。今後の進展により、被子植物における胚乳の役割に関して新たな提言ができると期待がもてる。

よって、著者は博士 (理学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。