

博士学位論文審査等報告書

審査委員 主査 佐藤 雅彦

副査 平野 朋子

副査 増村 威宏

副査 福島 敦史

1 氏 名

松澤 萌

2 学位の種類

博士（理学）

3 学位授与の要件

学位規程第3条第3項該当

4 学位論文題目

植物の新生組織発生モデル「側根形成」における CAP ファミリー遺伝子の機能解析

5 学位論文の要旨および審査結果の要旨

【学位論文の要旨】

別紙に記載

【論文目録】

別紙に記載

【審査結果の要旨】

【最終試験の審査結果の要旨】

本博士学位論文は、モデル植物であるシロイヌナズナを用い、植物における CAP ファミリー遺伝子およびタンパク質の機能を、新生組織発生モデルである「側根形成過程」を通じて解析したものである。さらに、本論文では、植物における同遺伝子群の普遍的な機能を明らかにするとともに、低濃度の CAP ペプチドが植物の発達や環境ストレス耐性に与える影響を調査し、新規ペプチド性バイオスティミュラントとしての実用可能性を検討している。

第1章では、本研究の背景として、植物に虫こぶを誘導する因子である CAP タンパク質内の高度に保存された領域を含むペプチド(CAP ペプチド)が同定されていること、CAP タンパク質は細菌から昆虫、高等植物に至るまで広範な生物種に保存された分泌タンパク質であることなど、CAP ペプチドおよび CAP ファミリータンパク質について現在までの知見と未解明な点について詳細に解説した後、「CAP ペプチドが植物の器官形成プログラムを操作して虫こぶを誘導するならば、植物の内在性 CAP タンパク質も本来の器官形成において重要な役割を担っているのではないか」との仮説を立て、この仮説の意義と目的を明確に述べている。

第2章では、シロイヌナズナゲノム上に存在する22種類の CAP 遺伝子について、プロモーター-GUS 法を用いた網羅的組織発現解析を実施した。その結果、これらの遺伝子は、根やシュートの分裂組織、生殖組織、側根形成部位など、細胞分裂や分化が活発な組織で顕著に発現していることが明らかとなった。特に、側根形成過程で特異的な発現を示す3つの CAP5ファミリー遺伝子(CAP51, CAP52, CAP53)に着目し、自己プロモーター制御下で蛍光タンパク質 mNeonGreen を発現するシロイヌナズナレポーターラインを用いたライブイメージング解析の結果、いずれの遺伝子も側根形成予定部位の皮層細胞で発現することが判明した。この結果は、CAP5 遺伝子群が皮層側から側根の発生プロセスを制御している可能性を示唆している。

第3章では、側根に発現する CAP 遺伝子に関して、側根形成時における詳細な機能を解析した。初めに、側根創始部位の皮層細胞で発現する CAP52 について、保存性の高い CAP ペプチド領域を含む推定 CAP52 成熟ペプチドの発現動態をライブイメージングによって解析した。その結果、側根原基形成前は皮層細胞に局在していた CAP52 ペプチドの蛍光が、側根発生に伴い、形成された側根原基の表皮細胞で観察された。この結果から、成熟型 CAP52 ペプチドは、皮層細胞から分泌され、側根原基の表皮細胞内へと移行することが示された。次に、側根開始部位に発現した3つの CAP 遺伝子(CAP51, CAP52, CAP53)について、CRISPR-Cas9 を用いたゲノム編集によって遺伝子破壊したシロイヌナズナ変異体を解析した。その結果、cap52cap53 二重変異体では野生型と比較して若干の側根数減少が認められた。

一方、発現解析において、側根発生部位付近で発現が見られた 2 つの CAP 遺伝子 (CAP34, CAP61) の二重変異体 *cap34cap61* は、野生型に比べて側根の数が有意に減少していた。CAP34 は主根内部の前形成層を構成する細胞の一部で発現が確認され、その発現位置より側根形成が誘導されることが確認された。以上の結果より、これら 5 つの CAP タンパク質 (CAP34, CAP61, CAP51, CAP52, CAP53) が協調的に側根形成に関与しており、特に、CAP34 は、側根発生予定位置の前形成層細胞からの分泌を介して、側根創始細胞の誘導を担う鍵因子であると結論づけた。

第 4 章では、高度に保存された 6 残基のアミノ酸からなる CAP ペプチドの施用が、植物の生理作用に与える影響を評価した。低濃度 (10 nM) の CAP ペプチドを処理したシロイヌナズナでは、クロロフィル濃度および光化学系 II の最大量子効率 (Fv/Fm) が有意に増加し、葉面積や側根数も有意に増加していた。これらの結果から、適度な濃度の CAP ペプチド処理は、光合成反応を促進することにより植物の成長を増強することが明らかとなった。

また、環境ストレス耐性試験において、10 nM のペプチド処理群では、短時間の高温ストレス (44℃, 4 時間) に対する生存率が向上し、窒素欠乏条件下においても正常に生育する個体率が顕著に高まった。これらの結果から、適正濃度の CAP ペプチド処理が、光合成活性の向上とストレス応答系の強化を両立させるバイオスティミュラントとして極めて有効であることを示した。

第 5 章 総合考察では、第2章から第4章までの結果を総合的に考察し、側根の形態形成をモデルとして明らかとなった CAP ファミリー遺伝子・タンパク質の機能を元にして、植物の形態形成全般における CAP ファミリー遺伝子・タンパク質の普遍的な機能について総合的に議論した。更に、CAP 遺伝子・タンパク質は、哺乳類において生殖や多様な疾患へ関与していることから、様々な生物における CAP タンパク質の機能解明の可能性について述べ、本研究の結果が、真核生物における CAP タンパク質の機能の理解の第一歩になる可能性があることを示唆した。以上、本論文は、シロイヌナズナの CAP ファミリー遺伝子・タンパク質の機能を総合的に明らかにし、さらにバイオスティミュラントとしての応用可能性を示したものであり、博士 (理学) の学位論文としてふさわしいものと判断した。

最終試験の結果の要旨

令和8年2月5日 午前10時30分より稲盛記念会館視聴覚室において博士学位論文発表会を公開で行った。約40分間の口頭発表後、質疑応答が行われた。質疑応答では、本博士論文における研究の意義、CAP ファミリータンパク質の植物における普遍的な機能、CAP ペプチドの細胞間移行メカニズムなど結果の解釈、今後の研究課題など多岐にわたる質問がなされたが、申請者は、全ての質問に対し、適切に回答・議論を行った。以上の結果を踏まえ、審査員による審議の結果、最終試験については、審査員全員一致で合格とした。