



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Identification of novel factors involved in polarized cell expansion and development in the moss, <i>Physcomitrium patens</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Singh, Prerna
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第16288号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95521
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	PRERNA_SINGH_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 SINGH Prerna

審査担当者	主査	教 授 藤 田 知 道
	副査	教 授 千 葉 由 佳 子
	副査	准教授 檜 本 悟 史
	副査	准教授 佐 藤 長 緒

学 位 論 文 題 名

Identification of novel factors involved in polarized cell expansion and development
in the moss, *Physcomitrium patens*
(コケ植物 *Physcomitrium patens* における極性細胞の伸長と発生に関与する新規因子の同定)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

細胞極性は、あらゆる生物においてその組織形成や環境応答に不可欠である。例えば、極性細胞伸長は、単細胞真核生物である酵母の非対称分裂に重要であり、植物における根毛の発生を制御している。このような細胞極性の制御に Rho ファミリーに属する低分子量 G タンパク質 (Rho GTPase) をはじめとするシグナル分子と細胞骨格の協調的な働きが重要だが、これら分子機構の詳細の多くは未解明である。従来の遺伝学的アプローチは有用だが、遺伝的冗長性や必須遺伝子の致死性が課題となっている。そのため、従来とは異なる手法からのアプローチによる細胞極性研究の進展が期待されている。

本研究において著者は、このような現状にある細胞極性研究について、コケ植物の研究モデルである ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium patens*) を用い、原糸体の頂端幹細胞が、先端成長と呼ばれる極性成長をする細胞であることに着目し研究を実施した。そして、細胞極性の分子制御機構を解明するため、化学遺伝学的手法を用いて研究を行い、その全貌の理解を目指した。

第 1 章において、著者は、原糸体の頂端幹細胞の極性成長を連続的に追跡し、細胞極性の異常を評価できる化合物スクリーニング系を確立した。その結果、細胞極性の制御に関わると考えられる新規化合物 F4 の同定に成功し、さらにその作用機構の解析を行なった。

化合物 F4 の処理により、原糸体細胞の伸長が著しく抑制され、細胞が短縮し、細胞の先端側が膨らむことを見出した。また、植物の Rho GTPase である ROP GTPase の局在が乱れることも見出した。さらに F4 を 2 時間程度の短時間処理することで、細胞骨格のアクチン繊維が速やかに脱重合することを見出した。そこで F4 がどのようにアクチンの脱重合を促進し、ROP GTPase の局在を乱すのかを理解するために、F4 処理による遺伝子転写産物の変動をゲノムワイドに解析した。このため F4 添加後の異なる経過時間において、RNA シーケンス解析を行い、結果として F4 処理により脂質フリッパーゼ関連遺伝子の発現が有意に低下することを突き止めた。これにより、F4 処理下では細胞膜の脂質非対称性が破壊され、極性成長が阻害される可能性が示唆された。これらの結果は、脂質フリッパーゼが極性成長の制御に関与することを示唆し、ROP GTPase の膜局在制御における新たな手がかりを提供するものである。

第 2 章では、化合物 F4 の標的を明らかにするため、著者は DARTS (Drug Affinity Responsive Target Stability) と呼ばれる方法を用い研究を実施した。その結果、Apolipoprotein-like 5

(PpAPL5) タンパク質を有力な候補として同定した。このタンパク質について解析を進めた結果、PpAPL5 は小胞体 (ER) に局在することがわかった。また PpAPL5 を過剰発現し、さらに研究を進めたところ、過剰発現体では ER の形態が変化することを見出した。またクロロネマと呼ばれる細胞からカウロネマと呼ばれる細胞への分化過程が阻害され、細胞伸長が抑制されるなど細胞極性制御に関わると考えられる表現型異常も見出すことに成功した。ER の形態と細胞伸長、あるいは細胞極性がどのように関わるのかはまだあまり研究が進んでおらず、本成果により細胞極性制御における新しい視点を提供することができた。この一方で、F4 は PpAPL5 に直接結合しない可能性も示唆されたため、F4 は PpAPL5 と間接的に相互作用し、細胞極性や細胞伸長を制御しているのか、あるいはまた、F4 と PpAPL5 は異なる経路によりそれぞれ独立に細胞極性を制御しているかの可能性が考えられた。

本研究で新たに同定した化合物 F4 は ヒメツリガネゴケをはじめとして真核生物の細胞極性や細胞伸長を研究するための新たなツールとなり得る。また脂質フリッパーゼの詳細な機能解析や、Apolipoprotein 様タンパク質が関与するシグナル伝達経路の特定を進めることで、細胞極性の分子機構やこれを基盤とした生物の発生の仕組みの理解が進むことが期待される。

これを要するに、著者は、細胞極性の制御に関与する新たな化合物、タンパク質とその機能に関する新知見を得たものであり、生命現象の根本原理の解明に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士 (生命科学) の学位を授与される資格あるものと認める。