

論文審査の結果の要旨

氏名 本瀬宏康

本論文は2章からなり、第1章は、ヒヤクニチソウ葉肉細胞からの管状要素形成における局所的細胞間相互作用の重要性について、第2章は、第1章で存在の示唆された局所的細胞間相互作用因子の同定について述べられている。

維管束は篩部と木部からなる組織系であり、養分や水分の通道、シグナルの伝達、植物体の機械的な支持といった重要な機能を果たしている。このような維管束の機能が円滑に行われるためには、維管束を構成する細胞が連続した形で適切な場所に分化する必要があり、細胞間の相互作用を介した精巧な位置決定機構が維管束分化を制御している。しかし、維管束の位置決定機構については、普遍的な理解が得られていないのが現状である。この理由として、維管束分化を直接制御している細胞間相互作用を検出することの困難さが第一に挙げられる。そこで論文提出者は、ヒヤクニチソウ単離葉肉細胞からの *in vitro* 管状要素分化を用いることでこの問題の解決を図り、管状要素分化の位置決定機構を細胞間相互作用の面から明らかにすることを最終目標として研究を行った。

まず、第1章では、論文提出者は、論文提出者自身が修士課程で開発したシート培養法とサンドイッチ培養法を用いて、管状要素分化の細胞間相互作用を担う分化因子の特性を詳しく解析した。そして、分化因子は細胞外に分泌され、トリプシンで分解される分子量 50kDa 以上のタンパク質性物質であることを明らかにした。これを受けて、細胞分裂には関与せず管状要素分化のみを誘導または促進する高分子のタンパク質性分泌因子として、この分化因子を xylogen と名付けた。続いて、xylogen の分化に必要な時期をサンドイッチ培養法により検討した。その結果、xylogen は少なくとも培養 36 時間目から 60 時間目にかけて機能していると推定された。ヒヤクニチソウ葉肉細胞の管状要素への分化転換は葉肉細胞が脱分化する段階(ステージ 1)、分化能が限定されて管状要素前駆細胞となる段階(ステージ 2)、管状要素としての分化形質が発

現する段階(ステージ 3)の 3 つに区分される(Fukuda 1997)。今回 xylogen が働くと推定された時期は、このうちステージ 2 に相当し、xylogen が分化能限定化に参与することを示唆した。

第 2 章では、xylogen 同定のためにバイオアッセイ系の開発を行い、高密度で細胞を含むビーズと低密度で細胞を含むビーズを共培養すること（ビーズ培養法）で、これに成功した。このビーズ培養法を用いて、xylogen の検討を行い、xylogen は分化を誘導していない培地中には存在せず、分化を誘導した培地中のみ存在し、管状要素分化に伴い増加することを明らかにした。さらに xylogen の特性を調べた結果、xylogen は 10 分間煮沸してもほとんど失活せず、高温でも安定であるが、プロテアーゼ処理により分解する物質であることを明らかにした。また、様々なレクチンを用いて結合実験を行い、レクチンの糖に対する結合特異性から、xylogen はガラクトースやマンノースを含む糖鎖を持つと推測された。さらに、レクチン結合実験、 β -glucosyl Yariv 試薬との結合実験、さらにそれらと結合した分子の SDS-PAGE 解析から、xylogen は分子量 100kDa 以上の arabinogalactan protein (AGP) の 1 種であることを証明した。

以上、Xylogen はガラクトースとマンノースを側鎖に持つ AGP 様糖タンパク質で、ステージ 2 で機能し、脱分化細胞が管状要素前駆細胞に分化する過程を正に制御している因子であることを明らかにした。この結果から、xylogen の濃度増加が細胞を管状要素分化経路に引き込み、分化経路に引き込まれた細胞がさらに xylogen を産生するという正のフィードバックループが新たに想定された。このようなループは維管束の位置決定機構においてきわめて重要な役割を担っている可能性が高く、本研究は正のループの存在を初めて示した研究として高く評価される。

ここに得られた結果の多くは新知見であり、いずれもこの分野の研究の進展に重要な示唆を与えるものであり、かつ本人が自立して研究活動を行うのに十分な高度の研究能力と学識を有することを示すものである。よって、本瀬宏康提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。