

# 論文審査の結果の要旨

氏名 西谷 千佳子

本論文は4章からなり、第1章では、ヒヤクニチソウから単離した篩部特異的 HD-Zip 型ホメオボックス遺伝子 *ZeHB3* の mRNA とタンパク質の局在解析について、第2章では、*ZeHB3* を分子マーカー遺伝子として用いた維管束再生過程の解析について、第3章では *ZeHB3* の発現パターンを手がかりとしたヒヤクニチソウ培養細胞からの篩部関連遺伝子群の収集について、第4章では *ZeHB3* により発現が誘導される遺伝子群の探索について述べられている。

篩部は、同化産物を転流する重要な組織であり、植物ホルモンなどのシグナル伝達経路としても注目される。篩部の分化過程に関しては、形態学的な解析が、また篩部の機能に関しても生理学的解析を主とした様々な解析がなされているが、分子レベルでの解析はほとんどなされていない。篩部に関連した現象を分子レベルで解析する第一歩としては、篩部の、特に発生初期に発現する転写制御因子の単離と解析が有効と考えられる。論文提出者は修士課程において、シュート頂付近の未成熟な篩部細胞に特異的に発現するヒヤクニチソウの HD-Zip 型ホメオボックス遺伝子 *ZeHB3* を単離した。そこで、博士論文では、*ZeHB3* の発現を詳細に解析した上で、*ZeHB3* の分子マーカーとしての性質を利用し、分子マーカー遺伝子群を用いた切断傷害による維管束再生過程の解析、ヒヤクニチソウ培養細胞からの篩部関連遺伝子群の収集を行うとともに、*ZeHB3* の機能を解析した。

まず、第1章では、*ZeHB3* mRNA の蓄積パターンを解析し、*ZeHB3* mRNA が全ての器官で篩部に蓄積すること、*ZeHB3* mRNA の蓄積は篩管要素がまだ分化していない未成熟な篩部から始まり、篩部の成熟の前にその蓄積が見られなくなることを明らかにした。また、抗 *ZeHB3* 抗体により *ZeHB3* タンパク質の局在を解析し、*ZeHB3* タンパク質が未成熟な篩部細胞の細胞核に局在することを見いだした。これらの結果から、*ZeHB3* が未成熟な篩部細胞の分子マーカーとして有用であることと、*ZeHB3* が未成熟な篩部細胞において転写制御因子として機能していることを推定した。

第2章では、未成熟な篩部細胞の分子マーカー *ZeHB3* に加え、未成熟な木部細胞の分

子マーカー *TED3* 用い、切断傷害による維管束再生初期における篩部と木部の分化の制御を解析した。その結果、維管束形成初期には、木部と篩部の分化は異なって制御されており、篩部分化予定細胞から木部分化予定細胞への分化転換の起こる可能性を初めて見いだした。

第3章では、篩部関連遺伝子群の収集を目的として、ヒヤクニチソウ cDNA マイクロアレイの 1344 クローンから、ヒヤクニチソウ単離細胞の管状要素分化実験系において *ZeHB3* と類似した発現パターンの遺伝子群の収集、発現解析を行った。その結果、4 クローンを篩管要素一伴細胞複合体に発現する遺伝子として、1 クローンを未成熟な篩部細胞に発現する遺伝子として同定することに成功した。

第4章では、第1章、第2章、第3章の結果から、*ZeHB3* は篩部細胞の形成やその機能にとって重要な遺伝子であることが示唆された事を受け、*ZeHB3* により発現が誘導される遺伝子群の探索を行うことで、未成熟な篩部細胞における遺伝子発現のメカニズムに迫ることを目的とした。デキサメタゾン (DEX) により *ZeHB3* mRNA の発現を誘導できるシロイヌナズナを作成し、シロイヌナズナのオリゴアレイを用いて *ZeHB3* mRNA 発現により発現が誘導される遺伝子群の探索した結果、4 遺伝子 (subtilisin-like protein, zinc finger protein PE11 など) の同定に成功した。これらの内の 3 遺伝子の mRNA が野生株の組織で未成熟な篩部細胞に蓄積することが確認され、*ZeHB3* が実際に未成熟な篩部細胞に発現する遺伝子群の発現を促進することが明らかとなった。これらの遺伝子は *ZeHB3* タイプのホメオボックス遺伝子の直接のターゲットとなる可能性があり、篩部における遺伝子発現ネットワークの一端を初めて明らかにすることに成功した。

なお、本論文第1章、第2章は、出村拓、福田裕穂氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

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、西谷千佳子提出の論文は博士 (理学) の学位論文として合格と認める。