

論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤(大橋) 恭子

維管束は水分や栄養分のみならずシグナル分子をも植物体の隅々にまで運ぶ重要な組織である。維管束は木部、篩部、前形成層からなる複合組織であり、また木部には、管状要素、木部柔細胞、木部繊維といった複数の種類の細胞が含まれる。したがって維管束の細胞分化過程には厳密な転写制御が存在すると考えられるが、その詳細は明らかになっていない。その分子機構を明らかにする第一歩として、維管束に特異的に発現する転写因子の単離と解析が有効であると考えられる。論文提出者は修士課程においてヒャクニチソウ HD-Zip III 遺伝子 *ZeHB-10*, *ZeHB-11*, *ZeHB-12* を単離し、それらが木部分化特異的に発現することを示した。そして、博士課程では、新たに同定した *ZeHB-13* を含めた HD-Zip III 遺伝子の詳細な遺伝子発現プロファイルとその過剰発現体の形態異常と特異的遺伝子発現を明らかにし、これらをもとに HD-Zip III 遺伝子群による木部分化制御機構の一端を解明した。

本論文は4章からなり、第1章では、ヒャクニチソウから単離した木部特異的 HD-Zip 型クラスIIIホメオボックス遺伝子 *ZeHB-10*, *ZeHB-11*, *ZeHB-12* の発現解析について、第2章では、前形成層特異的 HD-ZipIII 遺伝子 *ZeHB-13* を中心とした HD-ZipIII 遺伝子群の発現解析について、第3章では *ZeHB-10*, *ZeHB-11*, *ZeHB-12* の過剰発現体を用いた機能解析について、第4章では *ZeHB-12* により発現が誘導される遺伝子群の探索が述べられている。

まず、第1章では、植物体において *ZeHB-10*, *ZeHB-11*, *ZeHB-12* mRNA の蓄積パターンを解析し、*ZeHB-10*, *ZeHB-11*, *ZeHB-12* mRNA がいずれも木部特異的に蓄積すること、およびそれら mRNA の蓄積は管状要素がまだ分化していない未成熟な木部から始まることを見いだした。また、*in vitro* 木部分化系における *ZeHB-10*, *ZeHB-11*, *ZeHB-12* mRNA の蓄積パターンを解析し、これらの遺伝子がいずれも木部分化過程で特異的に発現することを明らかにした。

第2章では、新規 HD-ZipIII 遺伝子 *ZeHB-13* を同定し、HD-ZipIII 遺伝子群の詳細な特徴付けを試みた。植物体における発現解析から、*ZeHB-13* は前形成層に、*ZeHB-10* は木部前駆細胞に、*ZeHB-11*, *ZeHB-12* は木部柔細胞に強く発現することを示した。また、*ZeHB-13* のシロイヌナズナホモログである *ATHB-15* が前形成層特異的に発現することを明らかにした。これらの結果から、前形成層から木部の分化過程において HD-ZipIII 遺伝子群の発

現が徐々に変化することが重要であることを示唆した。そして、この HD-Zip III 遺伝子の上流にブラシノステロイドシグナルが存在する可能性を世界で初めて示した。また、ヒヤクニチソウとシロイヌナズナの HD-Zip III 遺伝子の比較により、これら遺伝子が micro RNA によって制御されている可能性を示した。

第 3 章では、HD-Zip III 遺伝子の機能に迫るため、まず各々の遺伝子の過剰発現体をシロイヌナズナで作成し、その表現型を解析した。その結果、*ZeHB-10* 過剰発現体では花茎の維管束でより多くの管状要素の分化がみられ、*ZeHB-12* 過剰発現体では前形成層細胞あるいは木部前駆細胞の増加が見られた。次に、HD-Zip III 遺伝子が転写制御因子であることを *in vitro* 系を用いて解析した。その結果、*ZeHB-10* および *ZeHB-12* は正の転写活性化能を有すること、また *ZeHB-12* は GTAATNATTAC 配列に結合することが明らかになり、HD-Zip III 遺伝子が木部分化を正に制御する転写因子であることを示した。

第 4 章では、*ZeHB-12* は木部の形成やその機能発現にとって重要な遺伝子であるという結果を受け、*ZeHB-12* により発現が変動する遺伝子群の探索を行った。まず、ステロイドホルモン投与により *ZeHB-12* 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 23000 オリゴアレイを用いて、*ZeHB-12* mRNA 過剰発現により発現が変動する遺伝子群を探索した。その結果、発現が 2.5 倍以上変動する 687 遺伝子の同定に成功した。これらの中には、管状要素特異的な遺伝子は含まれず、木部柔細胞分化に関わる遺伝子群が含まれていた。これらの結果から、*ZeHB-12* は管状要素ではなく木部柔細胞分化を促進することが示唆された。また、同定された遺伝子群にはブラシノステロイドのシグナル伝達に関わる遺伝子群も含まれており、その内の 2 遺伝子は維管束に特異的に発現したことから、*ZeHB-12* により新規のブラシノステロイド伝達系が構築される可能性が示された。同定された遺伝子の内の転写因子を含むいくつかは *ZeHB-12* の直接のターゲットとなる可能性があることが配列の検索から明らかとなり、*ZeHB-12* を出発とする木部における遺伝子発現ネットワークの一端を明らかにすることに成功した。

なお、本論文第 1 章は、出村拓、福田裕穂氏と、第 2 章は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、伊藤（大橋）恭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。