

論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤 康子

本論文は 5 章からなり、第 1 章では、Preface として、この研究の背景と研究を始めるにあたっての動機について述べられている。第 2 章では本研究で使われた材料と方法について詳述されている。第 3 章、4 章は研究の結果とその考察であり、第 3 章では、異なる木部細胞間でのアポプラストを介したフェノール性物質のやりとりについて、第 4 章では木部細胞分化を阻害する新規の細胞間シグナル分子について述べられている。第 5 章では得られた結果を受けて、総合的に木部分化過程で働く細胞間相互作用について考察している。

高等植物で発達した維管束は、水や栄養素を個体の隅々まで運搬する通路として、また、機械的に個体を支持する骨格として生命の根幹に関わる組織である。維管束組織は多種類の細胞によって複雑に構築された組織である。維管束組織では、個々の細胞が自身の分化運命を獲得するためにも、また細胞機能を発揮するためにも細胞間の相互作用が働いていると予測されているが、その分子機構についてはほとんど明らかになっていない。論文提出者は、この維管束組織内で働く細胞間相互作用を解くために、ヒヤクニチソウ木部分化細胞培養系を用いた。この分化系では、単離した葉肉細胞をオーキシンとサイトカイニンの存在下で培養することによって、管状要素と木部柔細胞が同調的に分化する。そのとき、分化情報のやり取りは、細胞外、すなわち培地を通じて行われると考えられた。そのため、培養液を用いて、アポプラスティックな情報伝達や物質供給を解析することが可能であると考えたためである。そして、ヒヤクニチソウ実験系を用いて、木部細胞間に存在する相互作用を物質レベルで証明することに成功した。

論文提出者は 2 つの細胞間相互作用因子に注目した。1 つは、木部柔細胞と管状要素間の相互作用因子、他の 1 つは、管状要素の分化決定阻害に係わる細胞外因子である。

前者に関する最初の発見は培地の紫外線吸収スペクトルの測定から得られた。論文提出者は、木部分化特異的な 280 nm と 340 nm の吸収ピークを発見したのである。詳細な解析の結果、紫外線吸収の増加はコニフェリルアルコールに類似

した物質を含む複数のフェニルプロパノイド由来の物質であることが明らかとなった。興味深いことに、これらの紫外線吸収物質は、管状要素からだけでなくそれ以外の木部柔細胞と予想される生細胞から小胞輸送系を介して分泌され、すでに死んでいる管状要素の細胞壁上でリグニンとして重合されることが明らかとなった。この事実は、木部柔細胞が管状要素に対して、細胞壁物質をアポプラストを介して供給し続けることを物語っている。また、ブラシノステロイド合成阻害剤を用いた実験から、ブラシノステロイドによる木部柔細胞と管状要素分化誘導の違いが初めて示され、植物体における2つの細胞タイプの分化調節に関する重要な知見となった。

次に、論文提出者は、「ある種の分化抑制因子が木部細胞分化に関与している」という可能性を検討するために、管状要素分化の抑制因子を探索した。そして、培地の20%メタノール抽出画分に阻害活性を発見した。この阻害活性のもととなる因子をTDIF (TE differentiation inhibitory factor; 管状要素分化抑制因子)と名付け、さらに研究を進めた。そして、TDIFはオーキシンで誘導されること、細胞分裂には影響せず、管状要素分化のみを抑制することが明らかとなった。次に、TDIFによる管状要素分化の阻害様式を遺伝子マーカー、細胞マーカーなどを用いて詳細に調べた。その結果、この因子は分化の最終ステージへの移行を阻害する因子であることが明らかとなった。そこで、TDIFの性質を解析した。pronase Eで処理すると抑制活性が失われ、ゲルろ過クロマトグラフィーにより分子量は1000から3000 Daと見積もられたことから、TDIFはペプチドであると予想された。これらの基本的な性質をもとに、HPLCを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーを行い、最終的にTDIFの部分精製に成功した。この因子はこれまで全く報告のないもので、新シグナル因子の発見となった。

なお、本論文第3章の一部は徳永順士、佐藤康、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、伊藤康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。