

# 論文審査の結果の要旨

氏名 名川 信吾

本論文は、植物における幹細胞の維持と分化に関して、分子遺伝学的、植物生理学的に解析したものであり、6章からなる。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を述べている。第2章では本研究で使われた材料と方法について記述されている。第3、4、5章は研究の結果とその考察であり、第3章では、ジーントラップラインを用いた形成層特異的な遺伝子の同定について、第4章では、得られた形成層特異的遺伝子のうち、ポリグルタミン酸型葉酸からグルタミン酸鎖を切断する酵素をコードする *GGHI* とその類似遺伝子の分子遺伝学を用いた機能解析について、第5章では、ポリグルタミン酸型葉酸の生理機能について述べられている。第6章では得られた結果を受けて、総合的にポリグルタミン酸型葉酸の幹細胞の維持に関する役割について考察している。

植物メリステムは、新たな多様な細胞を作り出していく分裂組織で、そこには幹細胞が存在し、その維持と多様な細胞への分化が厳密にコントロールされている。論文提出者は、植物メリステムにおける幹細胞の維持と分化の制御機構を知る目的で、この制御に関与する因子の単離とその機能解析を行った。

論文提出者は、まず、シロイヌナズナジーントラップラインのスクリーニングにより、前形成層に強く発現するラインの探索を行った。そして、26000 のラインの中から5ラインの前形成層特異的ラインの同定に成功した。そして、その遺伝子発現の詳細な解析から未分化状態の ground meristem 細胞 (GM 細胞) から発現するライン (KG09306、KG12346、KG12419) と伸長した前形成層細胞に特徴的に発現するライン (KG11997、KG14159) の分離に成功し、維管束のごく初期段階を区別できるマーカーの獲得に成功した。また、その挿入タグを手掛かりに原因遺伝子の同定を行い、4ラインの原因遺伝子 (KG09306: *PINHEAD*、KG12346: *Atlg78660*、KG12419: *AtKTN*、KG11997: *At3g09070*) の同定に成功した。これらの遺伝子は、これまでほとんど明らかになっていない、維管束幹細胞の形成の初期過程を明らかにする tool になるとして、高く評価された。

次に、論文提出者は、KG12346 の原因遺伝子の発現・解析を進めた。KG12346 は gamma-glutamyl hydrolase 1 (GGH1) をコードする *Atlg78660* 遺伝子内にタグが挿入されていた。この酵素は葉酸のグルタミン酸鎖切断能を持つことが報告されている。しかし、この酵素と形態形成との関連はまったく明らかになっていなかった。GGH1 遺伝子はシロイヌナズナゲノム中に他の2つのホモログ遺伝子 (GGH2、GGH3) と一緒にタンデムに並んで存在していた。そこで、論文提出者は3つの GGH 遺伝子の発現パターンを GUS 発現と *in situ* ハイブリダイゼーションにより解析した。その結果、2つの遺伝子が前形成層、茎頂分裂組織周辺及び若い花器官など、メリステムで強く発現していることを明らかにした。さらに、その機能解明のために各 GGH 遺伝子の過剰発現体を作成したところ、いずれの GGH 遺伝子導入でも子葉やロゼット葉の融合、頂芽優勢の弱化、茎頂分裂組織の縮小が観察され、茎頂部におけるメリステム活性が低下していることが示された。逆に、GGH 遺伝子全ての発現を抑制しうる RNAi コンストラクトを作成し、シロイヌナズナ植物体に導入した。このうち、全ての GGH 遺伝子発現の低下した植物体では、花器官数の増加、花器官への異所的な苞葉形成、葉身上への異所的な二次葉身の形成が観察され、メリステム活性の亢進を示した。これらの結果を総合して、論文提出者は、GGH タンパク質は植物体の前形成層のみならず茎頂をも含むメリステム領域において、メリステム活性を負に制御していると結論づけた。本結果は、葉酸の代謝酵素がメリステムの活性を負に制御することを初めて見いだしたもので、高く評価される。

さらに、論文提出者はグルタミン酸型葉酸の機能を詳細に調べるために、生理学的な解析を行った。まず、葉酸生合成の拮抗的阻害剤である sulfanilamide を用いて、メリステム形成における葉酸の必要性を検討した。その結果、葉酸生合成阻害により、茎頂分裂領域の縮小や根の伸長阻害が引き起こされ、単グルタミン酸型葉酸添加によっては回復しないが、5 グルタミン酸型葉酸の添加により回復することを見いだした。この結果は、多グルタミン型葉酸が根端・茎頂のメリステム活性の維持に必須であることを初めて明らかにしたものと評価される。次に、多グルタミン型葉酸が維管束メリステムにも機能を持つかどうかを、ヒヤクニチソウ管状要素分化系を用いて解析した。その結果、3から6のグルタミン酸鎖を持つ葉酸を添加したときに、管状要素分化が阻害されることがわかった。一方で、単グルタミン酸型の葉酸は分化に影響を与えなかった。分化のマーカー遺伝子の発現解析の結果、多グルタミン酸型葉酸は未分化状態の細胞から前形成層様細胞への分化の過程を阻害していることを見いだした。この結果は、多グルタミン酸型葉酸が植物におけるメリステムすべてにおいて、その幹細胞の維持に関与していることを示した、世界初の研究として高く評価された。

なお、本論文第1章は澤進一郎、加藤友彦、佐藤修正、田畑 哲之、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。

以上、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、名川信吾提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。