

# 論文審査の結果の要旨

氏名 平川 有宇樹

本論文は、始原細胞と呼ばれる植物幹細胞の維持において、特定のペプチド情報分子の役割を分子生物学的、遺伝学、発生生物学的に解析したものであり、5章からなる。第1章では、研究の背景として植物幹細胞が存在する分裂組織の維持制御に關与する分子遺伝学的な知見がまとめられ、これと関連付けて研究の意義と目的が記されている。第2章では本研究で使われた材料と方法について記述されている。第3、4章は研究の結果とその考察であり、第3章では、低分子ペプチド TDIF の植物体内での機能解析とその受容体をコードする *TDR* の同定および機能解析が、第4章では、TDIF シグナルの標的遺伝子としての *WOX4* の同定およびその機能解析が述べられている。研究全体の総括と今後の展望が第5章に記されている。

植物幹細胞は、周囲の細胞からのシグナルによってその動態を決定すると考えられている。論文提出者は、維管束幹細胞をモデルとして、幹細胞に働きかけてその維持に働く因子の特定を目指し、ヒヤクニチソウ培養細胞系で単離された木部細胞分化阻害因子 TDIF に着目して、その植物体内での機能と作用機構を、シロイヌナズナを用いて解析した。

論文提出者は、TDIF の作用を植物体内で解析するため、シロイヌナズナにこのペプチドを投与するアッセイ系を開発した。これを用いて、TDIF が植物体内において前形成層細胞の増殖活性と前形成層細胞から木部細胞への分化の阻害活性を持つことを明らかにした。続いて、この TDIF 活性を利用して TDIF 受容体遺伝子の同定を目指した。このために、受容体候補遺伝子群の T-DNA タグラインを用いる逆遺伝学的な手法を採用し、TDIF への感受性が失われる変異体群を探索した。その結果、TDIF に非感受性になる変異体が3ライン得られ、これらの変異体はいずれも At5g61480 に T-DNA 挿入があることが明らかになった。この遺伝子にコードされるタンパク質の細胞外領域が TDIF と特異的に結合することが生化学的な実験により確認され、この遺伝子は TDIF の受容体をコードする *TDR* (*TDIF Receptor*) と名付けられた。この受容体を欠損する *tdr* 変異体および TDIF をコードする遺

伝子の一つ *CLE41* の機能欠損変異体では、前形成層細胞の減少と篩部に隣接した前形成層細胞が木部へと分化が見られ、内生の TDIF シグナル系が木部分化の抑制と前形成細胞の増殖に働いていることが明らかとなった。プロモーターGUS レポーター形質転換体を用いた観察から、TDIF をコードする *CLE41* および *CLE44* が篩部およびその周辺で、一方、その受容体 *TDR* は前形成層歳で発現することが明らかとなり、TDIF が細胞非自律的に働くことが示された。以上の結果は、維管束の篩部、木部、前形成層という主要な組織の発生制御に関わる細胞間シグナル系を見出した世界初の研究として高く評価された。

次に、論文提出者は TDIF シグナル受容後の標的遺伝子の探索をおこなった。WOX 転写因子ファミリーの遺伝子に着目した遺伝子発現解析により、TDIF によって速やかに遺伝子発現が促進される *WOX4* を見出した。*WOX4* プロモーターの GUS レポーター解析から、*WOX4* 発現は *TDR* と同様に前形成層特異的であることが明らかとなった。この遺伝子の変異体を用いた表現型観察から、*WOX4* は TDIF による前形成層細胞増殖の促進に必要な因子であるが、木部細胞分化には寄与しないことが明らかとなった。以上の結果から、TDIF シグナルは *TDR* により受容された後に少なくとも二つの経路によって前形成層細胞の分化と増殖を制御することが明らかになった。1つは *WOX4* を介した前形成層細胞の増殖促進経路、他の一つは *WOX4* を介さない前形成層からの木部細胞分化阻害経路である。論文提出者は、さらに、二次肥大における TDIF-*TDR* シグナル系の関与を解析し、二次肥大を継続的に生み出す形成層を長期的に維持するためには、TDIF による前形成層細胞の木部分化阻害が不可欠であることが証明した。以上の結果は、植物の幹細胞維持におけるペプチドシグナルの重要性を細胞レベルで示した初めての成果として高く評価された。

なお、本論文に記載された研究は篠原秀文、近藤侑貴、井上明日香、中名生幾子、小川真理、澤進一郎、伊藤恭子、松林嘉克、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、平川有宇樹提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。