

論文審査の結果の要旨

氏名 近藤 侑貴

本論文は、維管束を構成する木部細胞の分化制御における、ペプチド情報分子と植物ホルモンのシグナル統合のしくみを分子生物学的、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、研究の背景として維管束の多様な発生様式およびそれらの制御に関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、シュートにおける低分子ペプチド TDIF とその受容体 TDR の下流シグナルネットワークの解析が、第4章では、根における CLE ペプチドの木部分化制御機構の解析が記されている。研究全体の総括とそれを踏まえた考察が第5章に記されている。

維管束細胞は、ホルモンやペプチドをはじめとし、様々なシグナルを受けることで、分化の方向性が決定づけられると考えられている。論文提出者は、木部細胞分化を支配するシグナルネットワークの解明を目指し、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 および TDIF が属する CLE ペプチドファミリーに着目して、それらの木部分化における役割と作用機構に関して、様々な手法を駆使して解析した。

論文提出者は、シュートにおける前形成層細胞（維管束幹細胞）からの木部分化の制御機構を解析した。まず、TDIF-TDR シグナル伝達経路に着目し、酵母ツーハイブリッド法を用いて TDR と相互作用する因子の探索をおこなった。酵母を用いた解析から、BIN2 をはじめとする植物 GSK3s ファミリーに属する複数の細胞質キナーゼが TDR の細胞内ドメインと結合することを明らかにした。続いて、GSK3s の TDIF シグナルにおける役割を解明するため、GSK3s の多重変異体および阻害剤を使用した解析をおこない、GSK3s が TDIF シグナルの下流で木部分化の制御に関わることを明らかにした。さらに、シグナル伝達を担うこれら3つの因子 TDIF、TDR、BIN2 をベンサミアナタバコに導入し、植物内でシグナル伝達経路を再構築することで、BIN2 が TDIF 依存的に TDR から解離するという新たなシグナル伝達様式を明らかにした。GSK3s 活性マーカーをシロイヌナズナ前形成層細胞特異的に発現

させることで、前形成層細胞において TDIF は TDR を介して、GSK3s を活性化することを明らかにした。これらの発見を踏まえ、論文提出者はシロイヌナズナ葉ディスクを使用した、新たな木部細胞分化系を確立することに成功した。この分化系の解析から、植物ホルモンであるブラシノステロイドが TDIF と拮抗的に働き、それら 2 つのシグナルが GSK3s によって統合されることで、前形成層細胞の木部細胞への分化運命が決定づけられることを明らかにした。以上の研究は、維管束幹細胞の分化運命決定における、2 つのシグナルのクロストーク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、根における木部分化の制御の仕組みを解析した。まず、TDIF が属する CLE ペプチドファミリー群に着目し、ほぼ全種類にあたる 26 種の CLE ペプチドを合成した。これらの網羅的な添加実験により、CLE10 を含む複数の CLE ペプチドが根の原生木部道管の形成を阻害することを見出した。続いて、マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析から、CLE10 ペプチドがサイトカイニンシグナリングの負の制御因子である type-A *ARRs* の発現を抑制することを明らかにした。サイトカイニンも同様に、原生木部道管の形成を阻害することから、サイトカイニンのシグナルに関わる様々な因子の変異体を用いた遺伝学的な解析をおこない、CLE ペプチドは、type-A *ARRs* の発現を抑制することで、サイトカイニンシグナル伝達を活性化し、過剰な原生木部道管の形成を抑制しているという根の木部道管形成制御におけるシグナルのクロストークを明らかにした。TDIF は根の原生木部道管の形成を阻害しないことから、根とシュートにおける木部分化は異なるクロストークシステムによって制御されることが明らかとなった。以上の結果は、根の木部形成における CLE ペプチドシグナルの新規機能を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伊藤佑、中神弘史、平川有宇樹、藤田貴志、杉山宗隆、白須賢、Joseph J Kieber、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、近藤侑貴提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。