

# 論文内容の要旨

申請者氏名 遠藤 仁

高等植物の木部組織は全身への水や無機塩類の供給を行う道管に加え、植物体に物理的強度を付与する繊維細胞などで構成され、植物体の形作りや生育に重要な役割を担っている。本論文では、道管の分化を制御するマスター転写因子である *VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7* (*VND7*) 遺伝子の発現制御のしくみを明らかにすることを目的とし、*VND7* の発現制御の一端を担うであろう上流転写因子の同定とその機能解析、さらに、*VND7* 遺伝子座のエピジェネティクス状態の詳細な解析を行うことで、道管分化の決定機構解明に迫った。

本研究ではまず、*VND7* の発現制御に関わる上流転写因子を同定するため、道管要素分化過程で *VND7* と同調して発現が上昇する転写因子に着目し、*VND7*pro::*Luciferase* をレポーターとしたパーティクルボンバードメントによるトランジェントアッセイを行い、*VND7* のプロモーター活性を誘導する因子の探索を行った。その結果、複数の転写因子が *VND7* プロモーター活性を誘導すること、さらに、*VND7*pro:: *$\beta$ -glucuronidase* コンストラクトを導入した形質転換体においても *VND7* プロモーター活性を誘導できることを明らかにした。これらの結果は、これら転写因子が *VND7* プロモーターの活性を誘導する能力を持つことを示唆している。また、同定した転写因子について、プロモーターレポーターを用いた発現解析、ゲルシフト解析、過剰発現体の解析、を行うことにより、これら転写因子の多くは道管が形成される根の中心柱で発現していること、*VND7* のプロモーター領域に結合すること、過剰発現により異所的な道管細胞分化を誘導することなどを明らかにした。

一方で、同定した上流転写因子の植物個体内での過剰発現では内性の *VND7* の顕著な発現誘導は認められず、トランジェントアッセイ、発現解析やゲルシフト解析の結果と矛盾するものであった。このことから、「生体内において *VND7* の遺伝子座は、組織もしくは細胞レベルで遺伝子座特有のエピジェネティック状態（ヒストン修飾や DNA のメチル化）による発現制御を受けている」との仮説を立てた。そこで、この仮説を検証するために、エピジェネティックな *VND7* 遺伝子の発現制御という観点から解析を進めた。その結果、DNA メチル化に関わることが知られている薬剤 (5-adC) で処理をした植物体、ヒストン修飾に関わる遺伝子を欠損した変異体、その他様々な遺伝子組み換え個体の解析から、*VND7* の発現制御には少なくとも、*VND7* 遺伝子座のヒストン H3K27 のトリメチル化や DNA のメチル化が負の制御を果たしている可能性が強く示唆された。同時に、これらの解析を通じて *VND7* 以外にも *VND3*、*VND4*、*VND5* など他の *VND* 遺伝子もエピジェネティックな遺伝子発現の調節下におかれていることを見いだした。

以上のように、本研究により *VND7* の発現を制御する複数の転写因子が同定されるとともに、*VND7* の発現には *VND7* 遺伝子座のエピジェネティック状態が深く関わっていることが明らかにされ、今後の道管分化の決定機構の解明に向けた重要な足がかりが得られた。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 遠藤 仁

植物の生育や形作りに重要な役割を果たす道管細胞の分化のマスター因子である VND7 転写因子が同定されていた。しかし、このマスター因子の発現がどのように制御されているのかは不明な点が多い。申請者は、VND7 転写因子の発現制御機構を解明することを目的とし、上流の転写因子の探索などから、以下に示す新たな知見を得た。

1. VND7 遺伝子は、自身がサブファミリーを形成する VND 転写因子群、LBD 転写因子群、GATA 転写因子群、Homeobox 転写因子など、複数の転写因子群によって直接ないし、間接的に正に発現制御されている可能性があること。
2. VND7 プロモーターに直接結合することが示された VND1-VND6 転写因子の過剰発現体において、異所的な道管細胞形成が誘導されること。
3. 上流転写因子の過剰発現体では内性の VND7 遺伝子の顕著な発現変動が認められないこと。このことから、これら転写因子が VND7 には依存せずに異所的な道管細胞分化を引き起こす能力を有していること。
4. VND7 遺伝子座は、ヒストンテールの残基である H3K27 のトリメチル化や DNA のメチル化の修飾を受けていること。
5. 上記 5 の修飾によって VND7 遺伝子の発現が負に制御されている可能性があること。
6. VND7 以外の他の VND 遺伝子の発現も上記 5 にあるようなエピジェネティックな修飾により、その発現が制御されている可能性があること。

以上のことから申請者は、VND7 遺伝子の発現制御には複数の上流因子が関わっていること、そして道管分化を司る VND7 などの VND 遺伝子の発現制御には DNA のメチル化や H3K27 のトリメチル化などのエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が存在していることを世界で初めて明らかにした。

本論文は、植物において道管細胞の分化という細胞の運命決定プロセスがどのように行われ調節されているのかといった、植物の細胞分化の分子メカニズムの一端を明らかにしたものであり、学術上貢献するところが大きい。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。