

# 論文内容の要旨

申請者氏名 Nur Ardiyana Rejab

Tracheary elements of xylem vessels are characterized by the formation of secondary cell wall (SCW) between the plasma membrane and primary cell wall. TRACHEARY ELEMENT DIFFERENTIATION-RELATED6 (TED6) and TED7, encoding closely related plasma membrane proteins, were identified to be important for SCW formation based on aberrant SCW observed in vessels of *Arabidopsis* roots upon suppression of TED6 and TED7 as well as the ability of TED6 to interact with the SCW-related cellulose synthase (CesA7). However, it is still unclear how these proteins function during SCW formation.

Homolog search in several plant species revealed that TED6 and TED7 are conserved only in angiosperms but not in other basal taxa analyzed in this study. Subsequent analysis using  $\beta$ -glucuronidase (GUS) reporter lines showed that the expression of TED6 and TED7 was restricted only to differentiating vessel elements of all organs examined, but not in other cell types that also have SCWs. Since TED6 and TED7 are found only in angiosperms, which develop vessels distinct from those in other plant lineages, it is plausible that the restricted expression of TED6 and TED7 reflects a specialized function in vessel-specific morphogenesis during SCW formation. This may lead to better water conducting capacity, giving rise to successful colonization of the land by angiosperm plants.

Observation of YFP-tagged TED6 and TED7 driven by its own promoters during ectopic SCW deposition (using VND7-induction system) revealed dynamic in protein localization, which they localized broadly on cell surface at the early stages of SCW formation and later became confined underneath SCW domains. Plasmolysis experiment confirmed that both TED6 and TED7 localized to the plasma membrane and cell walls. In addition, disruption of microtubules and actin organization resulted in rapid changes in TED6 and TED7 localizations suggesting possible contribution of microtubules and actin to the protein function. Moreover, BiFC assays suggest the possible interactions of TED6 and TED7 with cytoskeletal components: ACTIN7 and TUBULIN7, which were identified in previous research, as well as between TED6 and TED7 themselves. Together, these findings suggest a possible contribution of TED6 and TED7 during the evolution of water-conducting cells from tracheids to vessels and these two proteins may function in guiding or marking the sites for SCW deposition by interacting with cellulose synthase complexes and the cytoskeleton.

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Nur Ardiyana Rejab

植物の木部道管を構成する管状要素は厚い二次細胞壁を特徴として持つ。道管の分化過程で高発現する遺伝子として見出された **TED6** 遺伝子と **TED7** 遺伝子は、互いによく似た膜タンパク質をコードし、その発現抑制によって二次細胞壁沈着の異常が起こることや **TED6** タンパク質が二次細胞壁合成で働くセルロース合成酵素 (**CesA7**) と結合することから、二次細胞壁沈着への強い関与が示唆されてきたが、実際の機能については不明の点が多かった。申請者は、以下の解析を行うことで、道管における二次細胞壁沈着についての新規知見を得ることができた。

1) 陸上植物の **TED6/TED7** ホモログについて系統解析を行ったところ、**TED6** と **TED7** は被子植物にのみ存在することがわかった。また、シロイヌナズナを用いて **GUS** レポーターによるプロモーター解析を行った結果、**TED6/TED7** 遺伝子は道管にのみ発現し、二次細胞壁を持つ他の細胞 (繊維細胞や葯の内被細胞など) には発現しないことを見出した。これらのことから、**TED6** と **TED7** は、被子植物のみが持ち、より効率的な水の通道を行うことができる「道管」に特異的な形態形成に強く関連した機能を持つことが示唆された。

2) 道管分化のマスター制御因子である **VND7** 転写因子を利用した異所的な道管分化誘導系を用いて、**TED6** および **TED7** の細胞内局在について詳細に解析した。表皮細胞等で誘導された道管において、**YFP** でタグした **TED6** および **TED7** の局在を観察したところ、二次細胞壁沈着の初期までには細胞表層全体に広がり、のちに二次細胞壁の沈着領域に限定されるという、これまでに他のタンパク質で報告のない新しい局在パターンが明らかになった。また、原形質分離を用いた解析から、**TED6** および **TED7** は主に原形質膜に局在し、**TED6** および **TED7** の細胞外ドメインは二次細胞壁と強く結合する可能性が示された。さらに、このような **TED6** および **TED7** の動態変化に微小管とアクチン繊維が強く関与することを示し、**TED6** および **TED7** にチューブリンとアクチンが相互作用する可能性と **TED6** と **TED7** が互いに結合する可能性を示唆する結果も得た。

これらの結果から、『**TED6** および **TED7** が「シダ植物と裸子植物に見られる仮道管」から「被子植物のみに見られる道管」への通水細胞の進化的変化に貢献している可能性』と『**TED6** および **TED7** が、セルロース合成酵素や細胞骨格と相互作用することによって、道管形成過程における二次細胞壁沈着の場を決定することに関わっている可能性』を示すことに成功した。

以上のように、本論文は植物における道管の二次細胞壁沈着に関する仕組みの一端を見出したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。