

## 論文内容の要旨

申請者氏名 神谷 雅子

根端を包む根冠組織は、根の重力屈性や分裂組織の保護、および土壌への代謝物の分泌等を通じて、根や植物個体の生育に重要な機能を担う。モデル植物のシロイヌナズナにおいて、根冠の細胞層は基部側の幹細胞から生み出され、分化・成熟してゆく。幹細胞から新しい細胞層が作られるにつれて古い細胞層が外側へと押し出され、最外層の細胞が規則的に除去される。シロイヌナズナにおいて、根冠最外層の除去には根冠周縁部におけるプログラム細胞死と先端部における生細胞の剥離という2つの過程が必要である。このような根冠最外層に特有の細胞層の除去機構、とりわけ生きた細胞が規則的に剥離する機構についての知見は非常に乏しかった。植物における細胞の脱離には、細胞壁成分の再構成が必要であり、特に細胞接着に主要な寄与を果たすペクチン多糖の分解が必須と考えられるが、根冠細胞の剥離過程で特異的に機能するペクチン分解酵素は報告されていなかった。

申請者の研究室では、シロイヌナズナの根冠分化のマスター制御因子である SOMBRERO (SMB)、BEARSKIN1 (BRN1) および BRN2 の3つの NAC 転写因子の機能解析が進められ、これらの制御因子の下流で根冠分化を担うと推定される22個の候補遺伝子が見出されていた。申請者はこれらの中から細胞壁多糖の代謝に関与すると予想される4つの遺伝子に注目し、それらの発現解析と機能解析を行った。その結果、これら4つの遺伝子は、いずれも根冠の最外層で強く発現しているものの、最外層内における発現細胞の特異性や、3つの転写因子に対する依存性が異なっていることが明らかとなった。特にペクチン加水分解酵素をコードすると推定される *ATIG65570* 遺伝子は、最外層で特異的に機能する BRN1 と BRN2 に依存し、剥離する根冠細胞で特異的かつ高レベルに発現しており、生細胞の剥離に機能していることが推定された。そこで申請者は、この遺伝子を *ROOT CAP POLYGALACTURONASE (RCPG)* と名付け、その詳細な機能解析を行った。

野生型植物において、剥離中の根冠最外層は外向きに湾曲して脱落するのに対し、*rcpg* 機能欠損変異体の剥離する根冠最外層はそのような湾曲を示さずにキャップ型の外形を維持しており、根端からの脱落が遅延していた。この表現型は RCPG と RFP の融合タンパク質を RCPG 自身のプロモーターで発現させることで相補され、この時 RCPG-RFP タンパク質は剥離する最外層の細胞壁に局在していた。また RCPG を根の全細胞で誘導的に過剰発現させると、根冠最外層の細胞が層を形成せずに個別に脱落した。さらに、クロマチン免疫沈降解析により、BRN1 が RCPG プロモーターの近位に直接結合することが明らかとなった。以上の結果は RCPG が根冠最外層の剥離において、細胞接着を緩める機能を果たしていることを示す。本研究により、生細胞の自発的な剥離という根冠に特有の機能を担う因子が同定され、根冠分化の制御因子から機能発現に至る遺伝的経路の1つが明らかとなった。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 神谷 雅子

植物組織内の細胞は堅固な細胞壁により互いに接着され、これにより器官や個体の外形が維持されている。植物個体内での細胞接着は、成長途上の組織中においては細胞形態やサイズの変動を補償するために部分的に緩むものの、個体の生存期間を通じて接着自体は維持されている。個体の成熟段階においては、葉や花弁などの器官の脱離や鞘の開裂などで細胞接着が切断される。このような個体発生プログラムの1つとしての細胞接着の開放は、個体発生の特定の時点で単発的に起こる現象である。本論文で解析された根冠細胞の剥離は、根の成長期間を通じて繰り返し起こる現象であり、かつ根冠の細胞剥離やそれに依存した細胞の恒常的なターンオーバーは、根の成長制御や土壌環境との相互作用を通じて、植物体の成長そのものに寄与している。したがって植物の成長生理の観点から非常に重要な現象である。またこの細胞剥離は根冠組織により自発的に制御されていることから、発生生物学的な観点においても、非常に興味深い現象である。

申請者は、バイオサイエンス研究科の博士後期課程において、本審査論文の研究を開始した。申請者が所属した植物発生シグナル研究室において、根冠組織の分化を制御するNAC転写因子の解析が進められており、これらの下流で機能する遺伝子群が同定されていた。申請者はこれらの中から細胞壁成分の再構成に機能すると予想される4つの遺伝子に着目し、これらが根冠最外層の特定の領域で発現していることを突き止めた。特に細胞接着に主要な寄与を果たすペクチンを加水分解する酵素をコードすると推定される *ROOT CAP POLYGALACTURONASE (RCPG)* 遺伝子については、剥離する根冠細胞で特異的に発現すること、機能欠損変異体が剥離する根冠細胞層の形態に異常を示すこと、過剰発現が根冠細胞の接着を異所的に開放すること、コードするタンパク質が剥離する細胞の細胞壁に局在すること、また、この遺伝子の発現が根冠最外層で機能する *BRN1* 転写因子により直接制御されることを明らかにした。これらの研究結果は、*RCPG* が根冠最外層の細胞剥離を担う重要な遺伝子であることを示すものであり、かつ根冠分化の制御因子から細胞レベルで機能する実働因子に至るまでの遺伝学的な経路を初めて明らかにしたものである。本研究の成果は発生生物学の分野で権威ある国際ジャーナルである *Development* に、申請者を筆頭著者として掲載された。

以上のように、本論文は植物の通常の発生過程における生細胞の剥離というユニークな現象に着目し、転写制御因子から細胞剥離を担う実働因子、さらにこの因子が関与する細胞接着の開放に至る経路を初めて明らかにしたもので、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。