

# 論文内容の要旨

申請者氏名 WANG YUKUN

Monocarpic plants have a single reproductive phase, in which their longevity is developmentally programmed by molecular networks. In the reproductive phase of *Arabidopsis thaliana*, the inflorescence meristem (IM) maintains a central pool of stem cells and produces a limited number of flower primordia, which results in seed formation and the death of the whole plant. In this study, I observed morphological changes in the IM at cellular and intracellular resolutions until the end of the plant life cycle. I observed four biological events during the periods from 1 week after bolting (WAB) till the death of stem cells: 1) the gradual reduction in the size of the IM, 2) the dynamic vacuolation of IM cells, 3) the loss of the expression of the stem cell determinant *WUSCHEL* (*WUS*), and 4) the upregulation of the programmed cell death marker *BIFUNCTIONAL NUCLEASE1* (*BFNI*) in association with the death of stem cells. These results indicate that the stem cell population gradually decreases in IM during plant aging and eventually is fully terminated. I further showed that the expression of *WUS* becomes undetectable in IM at 3 WAB prior to the loss of *CLAVATA3* (*CLV3*) expression at 5 WAB, suggesting that *CLV3* is a negative regulator of *WUS*. Moreover, *clv3-2* plants showed delayed loss of *WUS* and lived six weeks longer compared with wild-type plants. These results indicate that the prolonged expression of *CLV3* at 4-5 WAB may be a safeguard that inhibits the reactivation of *WUS* and promotes plant death. Through transcriptome analysis, I revealed that reactive oxygen species (ROS) are involved in the control of plant longevity, and eight ROS-metabolism-related-candidate genes are isolated. Furthermore, I found that main components of ROS, superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), displayed dynamic changes along with the plant growth. Applications of 5 mM and 50 mM exogenous  $H_2O_2$  could inhibit *WUS* expression and promote dPCD marker *ORESARA 1* (*ORE1*) expression, respectively. The results indicate that ROS acts as an intracellular signal and plays important roles in regulating stem cell fate during plant senescent period. My work presents a framework for the regulation of plant longevity in *Arabidopsis* at morphological, physiological, and gene expression levels. Also, the findings provide novel insights into ROS-mediated signaling pathways involved in stem cell fate regulation towards the understanding of plant longevity control.

- やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。  
【※該当する事由に○印をすること】

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 WANG YUKUN

本研究は、シロイヌナズナのライフサイクルを通して茎頂幹細胞の老化と死のプロセスを初めて形態学的/生理学的に詳細に記述したものである。

一年草の植物は生殖相を一度だけもち、寿命を迎える。一年草であるシロイヌナズナの茎頂は限られた数の花を形成し、種子を残した後、茎頂は分裂をやめ個体死を迎える。しかし、これまでに茎頂において植物の老化に伴い、どのような形態学的、生理学的さらには分子レベルでの変化が起きるのか、という問いに対する理解は進んでいなかった。

本研究では、シロイヌナズナの一生における茎頂の細胞レベルでの解析を行い、1) 茎頂のサイズが加齢に伴い徐々に小さくなること、2) 茎頂幹細胞の液胞化が進むことを明らかにした。さらに、3) 幹細胞の決定因子である *WUSCHEL (WUS)* レポーターの発現が消失するにつれて、4) プログラム細胞死のマーカである *BIFUNCTIONAL NUCLEASE1 (BFN1)* の発現が上昇することを示した。これらの結果は、茎頂幹細胞は加齢に伴い数を減らし、最終的にはプログラム細胞死を迎えることを示している。さらに、興味深いことに、茎頂における *WUS* の発現消失は、幹細胞マーカである *CLAVATA3 (CLV3)* の発現消失よりも約2週間早く起きていた。また、*clv3-2* 突然変異体は野生型よりも6週間長く幹細胞が維持されたことから、野生型における *WUS* 発現消失後の *CLV3* の発現は *WUS* の再活性化を防ぐための「セーフガード機構」であることが予想された。さらに、時間軸に沿った茎頂のRNA-seq解析から、活性酸素系 Reactive oxygen species (ROS) 関連遺伝子が老化に伴い誘導されることを見いだした。実際に、活性酸素種である superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) や hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) は、加齢した茎頂においてダイナミックな蓄積レベルの上昇を示した。さらに、適切な濃度の  $H_2O_2$  の外的な塗布実験によって、*WUS* の発現が抑制され、プログラム細胞死マーカである *ORESARA 1 (ORE1)* の発現が上昇することを示した。これらの結果は、ROS が植物茎頂の老化を制御する内的な因子であることを強く示唆している。

以上のように、本論文は、植物の寿命が延びる幹細胞の制御因子の変異体や活性酸素系因子の突然変異体を活用することによって、茎頂の幹細胞は加齢に伴い、その領域が縮小するにつれて、幹細胞の液胞の肥大が観察され、活性酸素シグナル系によりプログラム細胞死が誘発されることを見いだしたもので、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。

やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】