

(続紙 1)

京都大学	博士 (理 学)	氏名	前田 和輝
論文題目	シロイヌナズナにおける根冠分化様式の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>根冠は植物の根の先端を覆う組織である。根冠の最外層細胞は周期的に脱離している。根冠細胞は根端分裂組織から生じて脱離に至る過程で、劇的な変化を遂げる。劇的な変化の1つとして、ムシレージというゲル状の物質を生成し、脱離と共に根圏へと放出するという特徴をもつ。しかしながら、モデル植物であるシロイヌナズナにおいては根冠ムシレージの研究はほとんどなく、どのように蓄積し放出されるのかについては不明であった。</p> <p>本研究では、まずシロイヌナズナの根冠細胞の詳細な観察を行った。播種後6日目以降のコルメラ6層目細胞 (以後c6細胞と呼ぶ) において、ペクチンを含む構造体を見出した。電子顕微鏡により、この構造体は他の植物種で観察されていたムシレージと類似した特徴をもっており、periplasm領域に存在していることから、periplasmic mucilageと呼ぶこととした。c6細胞以降のもう1つの大きな変化として、基部側の細胞壁の分解が観察された。c6細胞では細胞の側方に見られていたperiplasmic mucilageが、c7細胞では薄くなった細胞壁の外に存在していた。これらのことから、c6細胞で合成されたムシレージがc7細胞で放出されていると考えられた。</p> <p>シロイヌナズナの根冠ムシレージの蓄積と放出を含む根冠細胞の分化様式を解明するために、コルメラ特異的に発現している遺伝子を絞り込み、変異体の解析を行った。その結果、ペクチン修飾酵素をコードしている <i>PECTIN METHYLESTEASE 11</i> (<i>PME11</i>) の機能を明らかにすることができた。<i>pme11</i>変異体の根端を観察したところ、野生型と比べて根冠脱離が起こりにくくなっていた。根冠脱離に関わる遺伝子として知られている <i>ROOT CAP POLYGALACTURONASE (RCPG)</i> との二重変異体では、脱離異常の表現型が相加的かつ相乗的であることが示された。このことから、<i>PME11</i> と <i>RCPG</i> は一部独立に機能しつつ、全体としては根冠脱離に寄与していることが示唆された。<i>pme11</i> の電子顕微鏡観察では脱離が遅れるc8細胞やc9細胞の中にムシレージが蓄積している様子が観察され、<i>PME11</i> は根冠細胞の脱離とムシレージの放出の両方に関与している可能性が考えられた。また、<i>RCPG</i> の発現制御に関わっているNAC型転写因子である <i>BEARSKIN1 (BRN1)</i> と <i>BRN2</i> の変異体の解析により、<i>BRN1/2</i> がムシレージの蓄積を制御している可能性が示唆された。</p> <p>以上のように、本研究では、これまで未知であったシロイヌナズナにおける根冠ムシレージの形成過程について体系的なモデルを提唱することができた。また、根冠の分化を制御している <i>BRN1/2</i> が根冠ムシレージの蓄積にも関与していることを明らかにした。根冠ムシレージについては未だに不明な点が多いが、本研究で得られた知見は、これからの根冠ムシレージ研究において基礎になると期待される。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

前田和輝氏は、シロイヌナズナにおける根冠分化様式の解明を目指して研究を行った。植物の根冠は根の先端を覆う組織であり、根冠細胞はその最外層で周期的に脱離している。根端分裂組織から生じて脱離に至るまでの過程で、根冠細胞は劇的な変化を遂げるが、もっとも劇的な変化の1つとして、ムシレージというゲル状の物質を生成し、脱離と共に根圏へと放出するという特徴をもつ。これまでムシレージに関する研究は、放出量の多い植物種において行われてきたが、モデル植物であるシロイヌナズナでは根冠ムシレージの有無が不明であり、これまでほとんど研究されていなかった。前田氏は、シロイヌナズナの根冠細胞の詳細な観察を行い、播種後6日目以降のコルメラ6層目細胞（以後c6細胞）において、ムシレージが蓄積していることを発見した。c6細胞以降では、基部側の細胞壁の分解が観察され、c7細胞では薄くなった細胞壁の外にムシレージが放出されていることも判明した。これらの結果から、前田氏はシロイヌナズナにおける根冠ムシレージの形成過程について体系的なモデルを提唱した。また、根冠細胞に蓄積しているムシレージをmPI染色で観察できることや、根から放出されたムシレージの量を墨汁染色で定量できることなど、シロイヌナズナの根端ムシレージの解析に役立つ観察技術を確立した。前田氏のこれらの研究成果は、これからの根冠ムシレージ研究において基礎になると期待される。

さらに前田氏は、シロイヌナズナにおける根冠分化に関わる因子についても、いくつかの新しい知見を得た。コルメラ特異的に発現している遺伝子を同定するため、既存の遺伝子発現データから候補因子を絞り込んだ。絞り込んだ候補には、すでに根冠脱離に関わることが知られている遺伝子も含まれており、絞り込みは妥当と考えられた。それらの遺伝子について、T-DNA挿入変異体の解析を行ったところ、ペクチン修飾酵素をコードしている *PECTIN METHYLESTEASE 11 (PME11)* を根冠分化に関わる新規因子として同定した。*pme11*変異体では、野生型と比べて根冠脱離が起こりにくくなっており、根冠脱離に関わる遺伝子として知られている *ROOT CAP POLYGALACTURONASE (RCPG)* との二重変異体では、脱離異常の表現型が相加的かつ相乗的であることが示された。このことから、PME11とRCPGは一部独立に機能しつつ、全体としては根冠脱離に寄与していることが示唆された。また、前田氏は、RCPGの発現制御に関わっているNAC型転写因子である *BEARSKIN1 (BRN1)* と *BRN2* がムシレージの蓄積を冗長的に制御していることを明らかにした。前田氏のこれらの研究成果は、根冠細胞の理解を深める上で非常に重要な知見であり高く評価できる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。また、令和2年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えて、その内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 年 月 日以降