

題目: シロイヌナズナを用いた排水組織の多面的解析

氏名: 八木宏樹

## 要旨

排水組織 (hydathode) は植物から液体の水を排出するための組織である。植物は朝露に代表されるように液体としての水分を排出することが知られている。この現象のことを溢泌 (いっぴつ) と呼び、維管束植物で広く観察されている。多くの植物では、排水組織は葉の鋸歯の末端に位置しており、維管束と連結している。維管束を介して運ばれてきた水分は排水組織中の小さな細胞群を経由し、水孔と呼ばれる孔辺細胞を排出口として外環境へ溢泌される。排水組織の構造を理解しようとする研究は主に植物分類学分野で行われてきたものの、体系だった研究例はほとんどなかった。また、分子・遺伝子レベルでの生理学的機能や発生機序もほとんど解明されていなかった。本研究ではモデル植物シロイヌナズナを用いて、排水組織を生理学、組織学、発生学そして分子生物学と多面的に解析することで、排水組織を広く理解することを試みた。

物質が維管束を介して排水組織へと運搬される様子を確認するため、色素液を用いた petiole dip 実験を行った。色素は排水組織に即時に運搬されたことから、排水組織は植物にとって不要な物質を蓄積する場所であることが示唆された。また色素は周囲に漏洩することなく排水組織に蓄積されたことから、排水組織にはバリアー様構造が存在することも示唆された。さらに、溢泌の生理学的意義を見出すため、ワセリンを葉の周縁部に塗布することで溢泌を阻害する系を構築した。溢泌を阻害された植物体ではガラス化の症状が見られたことから、溢泌は体内の水分量の調整に機能していることが示唆された。

シロイヌナズナ排水組織の構造を解明するため、多種の蛍光タンパク質発現マーカーラインを用いた観察を行った。エンハンサートラップライン E325-GFP 株は、排水組織は水孔と導管末端をつなぐ領域の小さな細胞 (E cell と名付けた) で GFP を発現していることが明らかとなった。電子顕微鏡などの観察から、E cell 間の細胞間隙は小さく、密な構造をとっていた。さらに、E cell の存在領域を囲う様に配置された葉肉細胞 (境界葉肉細胞) も観察された。この葉肉細胞は上述した排水組織のバリアー様構造の役割を担っている可能性がある。篩部蛍光マーカーである pSUC2:GFP 株および pSEOR1:SEOR1-YFP 株の観察から、排水組織には篩部は連結していないことが判明した。以上の観察結果から排水組織の主要構成要素は水孔、導管末端および E cell であり、さらに未知種の細胞も関与するものと結論付けた。

排水組織の発生機序を解明するため、排水組織三重蛍光マーカーライン E325-GFP/YUC4:nls-3xGFP/DR5rev:erRFP 株を作出し、時系列を追った観察を行った。観察の結果、鋸歯の発達に伴って排水組織自体が大きくなることが明らかとなった。また、

E325-GFP の発現よりも先に YUC4:nls-3xGFP および DR5rev:erRFP の発現が確認されたことから、オーキシンの生合成および蓄積は E cell の発達に先行することが示された。E325-GFP の発現機序を解明することで、排水組織発生の理解にもつながると考え、in vitro 系での E325-GFP 発現解析も行った。E325-GFP 株に維管束系列細胞誘導法 VISUAL を適用すると、サンプル全体で GFP 蛍光が確認されたことから、排水組織の発生と維管束の発生には共通するメカニズムが存在することが示唆された。また、排水組織では維管束前駆細胞のマーカーが発現していることも確認された。すなわち、排水組織が維管束系列の細胞に由来する可能性が考えられた。

排水組織で発現する遺伝子を網羅的に知ることは、排水組織の生理学・発生学の理解に直結するため、排水組織特異的なトランスクリプトーム解析を行った。排水組織は直径が約 100  $\mu\text{m}$  の小さな組織であり、単離が非常に難しい。本研究では、直径 100-200  $\mu\text{m}$  ほどのマイクロサンプルを単離可能なニードルデバイスを用いて排水組織の単離に成功した。最新の高効率な cDNA ライブラリー合成法 Lasy-seq を用いることで、マイクロサンプルからの RNA-seq 解析を実施した。RNA-seq 解析の結果、72 個の発現変動遺伝子を同定した。特にそのうちの 68 個が排水組織で発現量の高いものであった。68 遺伝子にはキチナーゼなど病害応答遺伝子の他、多種のトランスポーター遺伝子が含まれていた。

排水組織は古くから記載されていたものの、不明な点の多い組織であった。本研究ではシロイヌナズナ排水組織について、多面的な知見の獲得および排水組織研究の基礎の構築に成功した。排水組織は発生学における新たなモデルとなることが期待される。また、生理学的にも、排水組織は植物のシンク-ソースを理解する上で重要な機能を担う組織であると考えられる。本研究を皮切りにモデル植物に限らず、多種の排水組織について理解が進むことが期待される。