

## 論文内容の要旨

申請者氏名 竹中 悠人

二次細胞壁（二次壁）は道管細胞に機械強度や疎水性を付与し、植物体の支持や効率的な水分輸送を可能にする重要な構造体である。二次壁は細胞壁ポリマーであるセルロース、多糖成分ヘミセルロース、フェノール性化合物リグニンが結合した複合体により構成される。道管細胞分化マスター制御転写因子 VND6 および VND7 の同定によって二次壁形成の多くの実行因子の機能に関する情報は充実しつつあり、これまでに以下の二次壁形成過程モデルが提唱されている。1) 道管細胞分化開始とともに表層微小管の再配向が起こり、この微小管にガイドされた二次壁型セルロース合成装置による細胞表層でのセルロース生合成が開始される。2) 1) とほぼ同時、あるいは少し遅れてヘミセルロースの沈着が始まる。3) 沈着済みのセルロース・ヘミセルロースに浸透的にリグニンが沈着する。しかしながら、このモデルの証明は不十分であり、不明な点が多く残されている。そこで本研究では、道管細胞分化における二次壁形成メカニズムを解明するために、新規の二次壁沈着異常変異体の単離とその解析を行った。所属研究室で開発されたグルココルチコイド添加依存的な VND7 機能の活性化によって同調的かつ全身的に異所的な道管細胞の分化を誘導できる形質転換シロイヌナズナ VND7-VP16-GR ラインに着目し、このラインをエチルメタンスルホン酸で変異原処理を行うことで変異体プールを得た。そして、このプールに対して異所的道管の二次壁沈着パターンの異常を指標としたスクリーニングを行った。その結果、道管細胞に特徴的ならせん状の二次壁沈着パターンが全く見られない変異体 *baculites* を単離した。興味深い事に、*baculites* ではセルロースはらせん状のパターンを失って細胞表層全体に一様に沈着している一方で、キシランとリグニンは野生型と同様にらせん状に沈着していた。また、責任遺伝子は二次壁セルロース合成酵素サブユニットの一つである *CESA7* であり、変異を考慮すると C 端側を欠いたトランケート *CESA7* が作られている事が予想された。次に、時間経過を追い二次壁形成を観察したところ、野生型ではらせん状のセルロースシグナルに先だったキシラン沈着が観察された。また、微小管重合阻害剤オリザリン処理によって *baculites* のキシラン沈着パターンが乱れた事から、道管分化初期にはセルロース沈着と独立して、表層微小管配向に依存したキシランの沈着が起こることが示された。さらに、二次壁 *cesa* 変異体（点変異及び T-DNA 変異体）と VND7-VP16-GR を掛け合わせ、異所的な二次壁を観察した結果、二次壁セルロース形成においてサブユニットごとに異なる役割を持ち得ることが示唆された。以上をまとめると、本研究によって、道管細胞の二次壁形成が、セルロース合成から始まるものではなく、表層微小管配向に依存したキシラン沈着から始まる新しいモデルが提唱された。この二次壁形成初期のキシラン沈着はリグニン沈着の足場としては十分であることも示され、頑強性を持った二次壁の形成にキシランが一定の役割を持っていることが示唆された。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 竹中 悠人

細胞壁ポリマーであるセルロース、多糖成分ヘミセルロース、フェノール性化合物リグニンが結合した複合体により構成される二次細胞壁（二次壁）は、道管細胞に機械強度や疎水性を付与し、植物体の支持や効率的な水分輸送を可能にする重要な構造体である。これまでに道管細胞分化のマスター制御転写因子として VND6 および VND7 が同定されるなど、二次壁形成の実行因子に関する情報は充実しつつある。また、主に形態的観察から、二次壁形成過程モデルとして、道管細胞分化開始とともに表層微小管の再配向、微小管にガイドされた二次壁型セルロース合成装置による細胞表層でのセルロース生合成の開始、少し遅れてヘミセルロースの沈着、さらに浸透的なリグニンの沈着、が順次起こることが提唱されている。しかしながら、このモデルの証明は不十分であり、不明な点が多く残されている。申請者は、新規の二次壁沈着異常変異体の単離とその解析を通して、以下に示す新たな知見を得た。

1. 所属研究室で開発されたグルココルチコイド添加依存的な VND7 機能の活性化によって同調的かつ全身的に異所的な道管細胞の分化を誘導できる形質転換シロイヌナズナ *VND7-VP16-GR* ラインに変異原処理を行い、異所的道管の二次壁沈着パターンに異常をもつ（道管細胞に特徴的ならせん状の二次壁沈着パターンが全く見られない）変異体 *baculites* を単離した。

2. *baculites* の詳細解析から、この変異体ではセルロースのらせん状パターンが失われているものの、キシランとリグニンはらせん状パターンで沈着すること、また、責任遺伝子は二次壁セルロース合成酵素サブユニットの一つである *CESA7* であることが明らかになった。

3. 経時的な二次壁形成の観察から、野生型のシロイヌナズナではキシランのらせん状の沈着はセルロースの沈着に先だつことが見いだされた。また、微小管重合阻害剤オリザリンを用いた解析からキシランのらせん状の沈着はセルロース沈着とは独立して表層微小管配向に依存していることが示された。

4. 既存の二次壁 *cesa* 変異体（点変異及び T-DNA 変異体）に *VND7-VP16-GR* を掛け合わせることで、*cesa* 変異が二次壁パターン形成に与える影響を観察したところ、CesA サブユニットごとに異なる役割を持ち得ることが示唆された。

以上のように、本論文は、道管細胞の二次壁形成が、セルロース合成から始まるものではなく、表層微小管配向に依存したキシラン沈着から始まるという新しいモデルが提唱し、頑強性を持った二次壁の形成にキシランが一定の役割を持っていることを強く示唆しており、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。