論文内容の要旨

申請者氏名 渡部 貴史

種子植物の基本的な体制は、受精卵から始まる胚発生により作られる。胚発生においては、胚性の獲得、体軸の確立、分裂組織や器官原基の形成といった複数の発生イベントが一部重複しながら順序良く進行する。モデル植物のシロイヌナズナを用いたこれまでの精力的な研究により、胚発生の個々の段階を制御する制御因子群やそれらの遺伝的相互作用が明らかにされつつあるが、これらの複数の発生イベントを上流で制御するメカニズムについては知見が乏しい。

シロイヌナズナの推定転写因子 *RKD4* の機能欠損変異体は、受精卵の伸長阻害や胚のパターン形成異常、器官原基の非対称性や異数性など、胚発生の初期から中期のステージに広範な異常を示す。また実生で *RKD4* を過剰発現させると、体細胞が胚性を持つ細胞へリプログラミングされる。これらの知見から、*RKD4* が胚発生で機能する遺伝子群の発現制御を介して胚発生を促進していることが強く示唆されるが、その分子メカニズムは明らかでない。本研究では、植物細胞における *RKD4* の転写標的遺伝子を同定し、*RKD4* による転写制御が胚発生において果たす役割を明らかにした。

申請者はまず、2種類のエピトープタグを付加した *RKD4* を誘導的に過剰発現するシロイヌナズナ植物を樹立し、クロマチン免疫沈降 (ChIP) シーケンス解析により、*RKD4* が結合するゲノム領域を同定した。結合ピーク領域内に存在する機能的な結合コンセンサス配列を決定し、さらに *RKD4* 過剰発現体のトランスクリプトームデータとの統合により、*RKD4* が直接転写制御する343個の標的遺伝子を同定した。同定された標的遺伝子には、胚発生の様々なステージで機能する既知の制御因子が含まれていた。これらの中から、胚発生の異なるステージで機能する *LEC1*、*MPK3*、*ARR15* について転写レポーターと結合コンセンサス配列を欠失させたレポーターを作成し、*RKD4* に応答した発現制御に、結合コンセンサス配列が必要であることを明らかにした。また胚性の獲得に中心的な役割を果たす *LEC1* 遺伝子の初期胚における発現制御には、*RKD4* と結合コンセンサス配列が重要であることを明らかにした。

本研究により、*RKD4* が胚発生の多様なステージで機能する遺伝子の転写を直接制御し得ることが明らかとなり、*rkd4* 変異体が胚発生の複数の段階で多面的な表現型を示すことの分子的な裏付けが得られた。今回同定された遺伝子群の機能解析を進めることで、植物の胚発生やリプログラミングの統御機構の理解が大きく進展することが期待される。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 渡部 貴史

種子植物の胚発生においては、胚性の獲得、体軸の確立、器官原基の形成といった複数の発生現象が協調的に進行する。モデル植物のシロイヌナズナを用いた変異体スクリーニングや逆遺伝学的アプローチにより、胚発生 of 個々の段階を制御する因子やネットワークの解析が進められているが、これらを統合する制御系に関する知見は非常に乏しい。

本学位論文において、申請者はシロイヌナズナの *RKD4* 遺伝子に着目し、胚発生を統合する制御系の有無と作用機序を明らかにすることを試みた。*RKD* は植物に特異的かつ広範に存在する推定転写因子ファミリーである。*RKD* ファミリーの機能については、ゼニゴケやシロイヌナズナにおいて生殖細胞の形成や胚発生に機能することが、変異体の表現型をもとに示されているものの、転写レベルの標的遺伝子や、胚発生における具体的な機能についての知見は皆無であった。申請者はエピトープタグされた *RKD4* を誘導的に過剰発現する植物ラインを確立し、理化学研究所と共同でクロマチン免疫沈降 (ChIP) シーケンス解析を行った。得られたデータを解析し、シロイヌナズナのゲノム上で *RKD4* が結合する領域と、結合コンセンサス配列を同定した。さらに *RKD4* 誘導過剰発現体を用いたトランスクリプトームデータを統合することで、*RKD4* が結合し、発現が活性化される 300 個あまりの遺伝子を同定した。同定された標的遺伝子の中には、エピジェネティックな発現制御に機能する遺伝子群に加え、胚性の獲得や初期胚の極性化、根端メリステムの原基形成に関与する転写因子や MAP キナーゼカスケードの構成因子をコードする遺伝子が含まれており、*RKD4* が胚発生で機能する多様かつ重要な制御遺伝子群の転写を直接活性化し得ることを示した。標的遺伝子のうち、特に *LECI* 遺伝子については、その発現の活性化に、*RKD4* による結合コンセンサス配列への結合が主要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究の成果は、*RKD4* が多様な胚発生制御遺伝子の発現を転写レベルで直接活性化することで、胚発生の進行を統御する重要な制御因子であることを支持するものである。

以上のように、本論文は種子植物の胚発生を上流で統御する転写因子の機能を明らかにしたものであり、学術上貢献するところが大きい。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。