

論文内容の要旨

申請者氏名 秋吉 信宏

植物の進化過程において、水分輸送を担う通水細胞の獲得と進化は、乾燥した陸上環境に適応するために非常に重要であったと考えられる。現存の陸上植物が持つ通水細胞は、コケ植物の一部が持つハイドロイド、維管束植物の中でもシダ植物と裸子植物における主要な通水細胞である仮道管、そして被子植物で主要な通水細胞である道管細胞に大別される。これまでのシロイヌナズナやヒメツリガネゴケを用いた分子生物学的解析により、VNS (VND, NST/SND and SMB-related protein) ファミリーが通水細胞形成を制御することが示された。シロイヌナズナにおいては、VNS ファミリーが、下流転写因子や二次細胞壁形成・細胞死関連遺伝子など、道管細胞分化に必要な遺伝子群を転写活性化し、道管細胞分化を誘導する。一方、ヒメツリガネゴケの *VNS* 遺伝子 (*PpVNS*) の機能解析により、*PpVNS* とシロイヌナズナ VND (*AtVND*) 間で下流制御因子が保存されていることが明らかとなり、VNS を起点とした転写制御ネットワークの基本形は植物陸上化の早い段階で確立されたことが示唆された。そこで本研究では、通水細胞進化の分子的理解に向けて、(1) これまでに実験的検証が不十分であった VNS ファミリーの仮道管分化への関与、および (2) VNS ファミリータンパク質のシス配列結合親和性の進化に伴う変化、の 2 点に着目した。

(1) VNS ファミリーの仮道管細胞分化への関与を明らかにするため、裸子植物テダマツ VNS タンパク質について発現解析と機能解析を行った。これによって、仮道管分化時にも VNS タンパク質による細胞壁および細胞死関連遺伝子の転写活性化が重要であることを示唆し、仮道管分化における VNS ファミリーの役割を実験的に示すことに初めて成功した。

(2) 転写制御ネットワークを変化させる要因として、VNS タンパク質とシス配列の結合親和性に着目し、ヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバ、テダマツ、およびシロイヌナズナの 4 種類のリコンビナント VNS タンパク質と、MYB 転写因子、セルロース合成酵素 CesA、道管特異的システインプロテアーゼ XCP、およびリグニンポリマー化酵素 LACCASE をコードする遺伝子のプロモーターから得た 21 種類のシス配列について、蛍光分光相関法 (FCS 法) による結合親和性解析を行った。その結果、VNS-シス配列の結合親和性が、コケ植物と維管束植物の間で大きく変化し、その後、道管細胞進化のタイミングでさらに変化したことを示唆する結果を得た。

以上は、陸上植物通水細胞は VNS を起点とした転写制御ネットワークによって制御されているという説を改めて補強するとともに、従来想定されてきた VNS 標的シス配列の獲得や喪失による下流因子の変化に加え、VNS 自身の変化による標的シス配列との結合親和性の変化が、通水細胞進化の一因であったことを新たに示唆した。

☐ 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】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 秋吉 信宏

陸上植物進化の過程で水分の輸送を担う通水細胞の獲得と進化は極めて重要なイベントのひとつであったと考えられる。現存する陸上植物の通水細胞の主な種類は、コケ植物の一部が持つハイドロイド、維管束植物の中で多くのシダ植物と裸子植物が持つ仮道管、そして被子植物が持つ道管細胞である。しかしながら、こうした通水細胞の進化をもたらした分子機構については、これまで未解明な部分が多かった。

申請者は、通水細胞進化の分子的理解に向けて、陸上植物の通水細胞分化を制御する VNS ファミリーの比較分子機能解析を行い、以下に示す知見を得た。

1. 仮道管分化への VNS の関与を実験的に検証するため、テーダマツ VNS (*Pinus taeda* VNS; PtaVNS) の発現解析と分子機能解析を行った。その結果、テーダマツゲノムには 5 つの VNS 遺伝子 (PtaVNS) が存在し、このうち 4 つは仮道管細胞からなる木部で発現することを示した。さらに、これら PtaVNS はタバコ葉での過剰発現で異所的な二次細胞壁の形成能を持つことを示した。また、VND ファミリー下流遺伝子のテーダマツホモログをレポーターとした一過的発現解析によって、PtaVNS がシロイヌナズナ VND ファミリーと同様、二次細胞壁合成・細胞死関連遺伝子の転写を活性化する可能性を示唆するに至った。以上から、仮道管細胞分化が VNS ファミリーによって制御されることを示唆することに成功した。

2. オウシュウトウヒ (*Picea abies*) の培養細胞である仮道管様細胞形成株と非形成株を材料にトランスクリプトーム解析を行った。その結果、仮道管様細胞形成株では、非形成株と比較して、オウシュウトウヒ VNS (*PaVNS*) 遺伝子 4 つのうち 3 遺伝子の発現が有意に高いこと、また VNS の下流遺伝子群の発現が高いことを示した。さらに詳細な Gene ontology term 解析の結果、ハイドロイドから仮道管、そして道管への進化を裏付ける遷移的なトランスクリプトームの変化が示唆された。

3. VNS-シス配列の結合親和性の進化に伴う変化を実験的に検証するため、VNS タンパク質とシス配列の結合親和性に着目し、ヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバ、テーダマツ、およびシロイヌナズナに由来する 4 種類の VNS リコンビナントタンパク質と、VNS 下流遺伝子プロモーターから単離した 21 種類のシス配列について、FCS 法による結合親和性解析を行なった。その結果、VNS-シス配列の結合特性が、コケ植物から維管束植物への進化の過程で大きく変化し、その後、仮道管から道管細胞への進化のタイミングでさらに変化したことが示唆された。

以上のように、本論文は植物通水細胞進化に関わる分子機構解明の一助となるもので、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】