

論文審査の結果の要旨

氏名 コールマン ダンカン ピーター

本論文は5章からなる。第1章は序論、第2章は材料と方法、第5章は考察である。研究内容は大きく2つに分けられ、第3章と第4章に記述されている。

第1章では、研究の背景と目的が述べられている。まず植物の細胞リプログラミングおよび再生の様々な経路を、植物ホルモンによって誘導される経路と傷害によって誘導される経路を中心に整理し、それぞれに関わる分子ネットワークを概説している。また、傷害やその他のストレスによる細胞リプログラミング・再生に関し、代表的な事例を主要制御因子とともに紹介している。次に高温応答と傷害応答との係わりについて、傷害が高温応答経路を活性化することなど、これまでの知見をまとめた上で、**HSFA1** などの高温応答制御因子が細胞リプログラミングに関与する可能性や、**HSFA1** 活性化機構における翻訳後制御の重要性を指摘している。さらに翻訳後制御の一つとしてタンパク質の **SUMO** 化を取り上げ、発生現象やストレス応答における **SUMO** 化の意義を論じている。最後にこれらを踏まえ、**HSFA1** と **SUMO** 化に着目して、ストレス誘導性細胞リプログラミングの新しい制御系を明らかにする、という本研究の目的を述べている。

第2章では、研究に用いた植物材料と各種解析の方法が詳述されている。

第3章では、シロイヌナズナのシュート再生を実験系として、高温応答経路で転写制御の中核を担う **HSFA1** が細胞リプログラミングに果たす役割を解析した研究が記述されている。シロイヌナズナの胚軸断片を、合成オーキシンの **2,4-D** を含むカルス誘導培地 (**CIM**) で培養した後、サイトカイニンを多く含むシュート誘導培地 (**SIM**) に移植すると、シュート再生が起きる。本章ではまず、この培養系を用いて、**HSFA1** 遺伝子の多重機能欠損変異体 *hsfa1abd* や恒常的活性化型 **HSFA1** を発現する **35S::HSFA1dΔI** 株からシュート再生を誘導する実験を行い、*hsfa1abd* ではシュート再生が抑えられ、**35S::HSFA1dΔI** ではシュート再生が昂進したことなどから、**HSFA1** がシュート再生を正に制御することを明らかにしている。続いて **35S::HSFA1dΔI** のトランスクリプトーム解析を行って、高温ストレス応答の強制発動が **CIM** 培養中のカルス形成や多分化能の獲得に関わるとされる遺伝子の発現にはあまり影響せず、胚軸切断直後のストレス応答関連遺伝子の発現や、**SIM** 移植後のシュート頂分裂組織制御因子

の発現に強く影響することを示している。

第4章では、SUMO化によるタンパク質修飾と細胞リプログラミングの関係およびHSFA1のSUMO化に関する解析が記述されている。SUMO化酵素遺伝子の機能欠損変異 *siz1* がシロイヌナズナのシュート再生を昂進すること、傷害誘導性の細胞リプログラミングを仲介する転写因子 WIND1 の胚軸切断直後の発現を増大させることを見出し、WIND1 の優性抑圧型 WIND1-SRDX の導入が *siz1* によるシュート再生昂進を抑えたことと合わせて、SUMO化の低下が WIND1 を介してシュート再生を高めると結論している。また、*siz1* のトランスクリプトーム解析により、SUMO化の低下が *35S::HSFA1dΔ1* で高温ストレス応答を発動させた場合と同様に、カルス形成・多分化能関連遺伝子にはあまり影響せずに、ストレス応答関連遺伝子やシュート頂分裂組織制御因子の発現に強く影響することを示している。さらに免疫沈降等を用いた解析により、高温に曝露した植物で実際に HSFA1 の SUMO化が起きることを確認している。

第5章では、総合的な考察と結論、今後の展望が述べられている。とくにシュート再生に先立つ傷害から細胞リプログラミングまでの過程については、結果全体の包括的な論考に基づいて、傷害による HSFA1 の活性化が WIND1 を介して細胞リプログラミングを促し、一方で SIZ1 による HSFA1 の SUMO化はこの経路を抑制的に制御している、という全く新しい枠組みを提示している。

研究全体を通して得られた成果は多大であり、植物の細胞リプログラミングとシュート再生の分子機構、またストレス応答の分子機構に関し、重要な新知見を提供している。本論文は、これらの成果を正確な図表と明快な英文で記述している。結果の考察では、丁寧な論考により合理的な結論が導かれている。また、当該分野の文献は、不足なく適切に引用されている。

なお、本論文に記載された研究は、河村彩子、池内桃子、David Favero、Alice Lambolez、Bart Rymen、岩瀬哲、鈴木孝征、杉本慶子の各氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験・解析および論証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。