

論文審査の結果の要旨

氏名 馬 笛超

本論文は、植物の環境応答のメディエータとして、CLE2 および CLE3 ペプチドが担う役割を研究したものである。植物は、環境変動の感知と応答を制御する緻密なシステムを発達させることで様々な環境に適応してきたと考えられる。環境情報を特定の組織や細胞へ伝達するには、アブシジン酸やサリチル酸などの植物ホルモンに加え、ペプチド性シグナル分子が働くことが予想される。CLE ペプチドは、植物の発生過程において細胞間相互作用を担うシグナル分子として機能することが知られている。しかし、環境応答における CLE ペプチドの役割はまだ十分に研究されていない。論文提出者は CLE1–CLE7 ペプチドサブファミリーに着目し、環境応答における CLE ペプチドの機能を分子生物学的アプローチを用いて解析した。本論文は4章からなり、第1章ではこれまでの CLE ペプチド研究の知見が背景としてまとめられ、本研究の目的と概要が記されている。第2章では材料と方法が、第3章では環境変動に応じた CLE1–CLE7 遺伝子の発現パターン、そして CLE2 および CLE3 の機能欠損変異体および過剰発現体を用いた研究結果が記されている。第4章では炭水化物代謝制御および植物の免疫応答に関連した CLE2 および CLE3 ペプチド機能についての考察が記されている。最後に引用文献がまとめられている。

論文提出者は初めに、非常によく似たペプチド配列をコードする CLE1–CLE7 遺伝子それぞれが、野生型シロイヌナズナにおいて窒素欠乏、窒素添加、低温、高塩濃度、暗所処理に応じて多様な発現パターンを示すことを見出した。そして、窒素添加、暗所、さらにはショ糖欠乏による誘導が示された CLE2 遺伝子についての機能解析を行った。CLE2 の発現部位は、CLE2 プロモーター活性と転写産物を調べることで、根の中心柱に限定されていることを確認した。そして、CRISPR/Cas9 を用いて CLE ドメイン配列を破壊した *cle2* 変異体が、高窒素かつ低炭素の栄養条件のもと暗所で育てることで野生型より過剰な白化 (黄化) 表現型を示すことを発見した。そこで、根でつくられた CLE2 ペプチドが植物体全身での応答を制御する可能性が考えられたことから、根に限定した一過的な CLE2 過剰発現によって発現レベルが変動する遺伝子を網羅的に解析した。その結果、地上部において光条件に関連して炭水化物代謝制御で働く遺伝子が数多く発現上昇することがわかった。

次に、植物の免疫応答を誘導するエリシター、flg22, Pep2, elf18, および植物ホルモン

であるサリチル酸で野生型シロイヌナズナを処理することで、*CLE1-CLE7* 遺伝子が異なる発現パターンを示すことを見出した。その結果から、*flg22*, *Pep2*, サリチル酸処理で迅速に発現誘導される *CLE3* 遺伝子に着目して機能解析を行った。まず、*CLE3* 発現が *flg22*-FLS, *Pep2*-PEPR1/2, そして NPR1 依存的サリチル酸経路といった、それぞれ受容体を介した既知の免疫応答経路で誘導されることを確認した。そして *CLE3* の発現部位もまた根の中心柱に限定されていたことから、根に限定した *CLE3* 過剰発現を行い、*CLE3* ペプチドで制御される標的遺伝子を探索した。その結果、防御関連遺伝子である *ERF104* や *HSPRO2* などが地上部で発現誘導されることがわかった。地上部における防御関連遺伝子の発現は、根にサリチル酸を添加することでも誘導される。ところが *cle3* 変異体では、地上部での *ERF104* および *HSPRO2* の発現誘導が抑制されていた。また、免疫応答のマーカー遺伝子である *PR1* や *WRKY33* も、*cle3* 変異体において異常な応答を示した。一方、根におけるそれら遺伝子の発現誘導は *cle3* 変異体でも正常で、野生型同様のサリチル酸応答性が確認された。したがって、根で感知した情報を地上部での免疫応答へと変換する役割を、*CLE3* ペプチドが担っていることが考えられた。

先行研究では、*CLE1-CLE7* サブファミリーが冗長的に機能することが強く示唆されていた。しかしながら論文提出者は、*CLE1-CLE7* 遺伝子が応答する環境条件を吟味し、遺伝子発現が誘導される部位とペプチドを介したシグナリングが影響する部位を考慮して解析を行うことで、*CLE* ドメイン配列がわずか1アミノ酸違う *CLE2* と *CLE3* であっても、それぞれが異なる環境応答において重要な役割を担う可能性を示した。

なお、本論文に記載された研究は、遠藤暁詩、別役重之、下遠野明恵、および福田裕穂氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、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。