

論文審査の結果の要旨

氏名 森中 初音

本論文は5章からなる。第1章は序論、第2章は結果、第3章は考察、第4章は材料と方法、第5章は文献である。

第1章では、研究の背景と目的が述べられている。冒頭で植物の発生の高い柔軟性について論じた上、それを端的に示す現象として、細胞リプログラミングとシュート頂分裂組織（SAM）の新生によるシュート再生を取り上げ、関係する研究を概観している。とくにモデル植物のシロイヌナズナのシュート再生については、高濃度のオーキシンを含む培地でカルスを誘導し、高濃度のサイトカイニンを含む培地に移植して不定芽を誘導する、2段階培養系を用いて、分子生物学的な解析が進められ、オーキシン誘導カルスの細胞リプログラミングにおける根の発生経路の関与など、多くの知見が得られていることが解説されている。また、この場合、カルスが分裂組織の性質を部分的に残しているとされる内鞘（ないし内鞘様組織）に由来することから、完全に分化した状態からのリプログラミングではないことが指摘されている。次に、他の植物で報告されている、これとは異なるタイプのシュート再生が紹介されている。それらの中で、1970年代に開発され、一時生理学的研究に用いられた、トレニアの茎断片培養系は、カルス誘導段階を必要としない、完全に分化した表皮細胞が不定芽の起源となる、SAM構築の初発段階が表皮という2次元の場で起きる、といった特徴を有することが説明されている。これらを踏まえ、トレニア茎断片培養系を用いたシュート再生の解析により、細胞リプログラミングとSAM新生の分子ネットワークの新たな側面を明らかにするとともに、培養系によらず重要な役割を果たす共通因子を捉えるという、本研究の目的が述べられている。

第2章では、トレニア茎断片培養系におけるシュート再生について、細胞学的解析とトランスクリプトーム解析を行った結果が述べられている。まず培養系を再検討し、サイトカイニンとしてベンジルアデニン（BA）を添加した培地での明培養を、旺盛な不定芽形成が起きる標準不定芽誘導条件、BA無添加・明培養とBA添加・暗培養を、不定芽がまったく、あるいは限定的にしか形成されない対照条件として設定している。そして詳細な観察により、標準条件で培養した外植片の表皮では、脱分化を反映すると思われる核小体の発達と核の肥大が培養初期に起き、その後に細胞分裂が活性化すること、これらはサイトカイニンに大きく依存すること、細胞分裂によって生じた密

な細胞集団から SAM が構築されることなどを示している。次にトランスクリプトーム解析により、核小体の発達、細胞分裂の活性化、SAM の構築のそれぞれについて、関連遺伝子のサイトカイニンに依存した発現増大を明らかにしている。また、培養開始直後に、サイトカイニンの有無によらず、茎に特徴的な発現プロファイルから植物体の様々な部位の特徴が混在する発現プロファイルへの転換が起きることを見出している。さらにシロイヌナズナの各種培養系のトランスクリプトームデータとの比較により、すべての培養系で共通して発現が増大する遺伝子群を、細胞リプログラミングの普遍的因子の候補として同定している。

第3章では、考察と今後の展望が述べられている。各結果に関する考察の後、全ての結果を考え合わせ、トレニアの直接シュート再生の全体的枠組みについて、培養開始時の刺激に応じた大規模な遺伝子発現の再編により、表皮細胞の劇的なリプログラミングが起きて複数の細胞の属性を併せもつ多能性状態に移行、これにサイトカイニンが作用して核小体の発達や細胞分裂の活性化を引き起こし、SAM 制御因子による SAM 構築に至る、という仮説を提唱している。そして、今回得られた知見が、このユニークな培養系を用いたさらなるシュート再生研究の基盤となるとの展望が示されている。

第4章に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おり、第5章では引用した文献の情報が示されている。

研究全体を通して得られた成果は多大であり、植物細胞のリプログラミングと SAM 新生の分子ネットワーク解明に貢献する、重要な新情報を提供している。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推論が導かれている。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、間宮章仁、玉置裕章、岩元明敏、鈴木孝征、河村彩子、池内桃子、岩瀬哲、東山哲也、杉本慶子、杉山宗隆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。