

# 論文審査の結果の要旨

氏名 齊藤 真人

本論文は、植物を特徴付ける組織である維管束の分化の制御を細胞レベルで研究したものである。維管束は木部と篩部に加え、前形成層・形成層と呼ばれる維管束幹細胞からなる。維管束幹細胞は木部と篩部に分化しつつ、自らも分裂してその細胞数を維持する。しかしながら、維管束幹細胞における分裂と分化の制御のしくみは未だ十分に解明されておらず、謎のまま残っている。これまでに、TDIF (Tracheary element Differentiation Inhibitory Factor) が維管束幹細胞の細胞膜上に存在する受容体 TDR (TDIF Receptor) に受容され、維管束幹細胞の維持にはたらくことが知られていた。そして、TDIF-TDR シグナルの下流では、GSK3 キナーゼ (glycogen synthase kinase 3 proteins) が維管束幹細胞から木部細胞・篩部細胞への分化の阻害にはたらくことが明らかになっていった。しかしながら、GSK3 キナーゼのターゲットは何か、また、木部細胞・篩部細胞の分化は GSK3 キナーゼの下流でどのように制御されているかなど、GSK3 キナーゼの下流に関する知見は乏しいままであった。そこで、論文提出者は、GSK3 キナーゼの下流因子の探索とその働きに焦点を当てて解析した。本論文は4章からなり、第1章では、研究の背景として植物における GSK3 キナーゼに関する基礎的な知見がまとめられ、これと関連付けて研究の意義と目的が記されている。第2章では本研究で使われた材料と方法について記述されている。第3章では、GSK3 キナーゼの下流の因子の探索とその機能に関する様々な研究の結果が記されており、第4章では、これらの結果の考察に加え、研究全体の総括が記され、最後に引用文献がまとめられている。

論文提出者は、GSK3 キナーゼの下流因子探索にあたって、維管束細胞分化誘導実験系 (Vascular cell Induction culture System Using Arabidopsis Leaves: VISUAL) を選択した。この実験系では、GSK3 キナーゼの阻害剤である bikinin により、葉肉細胞が木部細胞・篩部細胞へと分化する。論文提出者は VISUAL を用いて様々な解析を行い、BES1 転写因子の機能欠損型突然変異体 *bes1* の複数のアレルで、木部細胞分化が抑制されることを見いだした。さらに、*bes1* では木部細胞分化に関連する多くの遺伝子の発現が低下することを明らかにした。一方で、*bes1* に BES1 遺伝子のゲノムを組み込んだ相補型植物体を作成し、この表

現型を VISUAL で解析したところ、木部細胞分化が回復することを見いだした。これまでに、BES1 はブラシノシグナルにおいて GSK3 キナーゼのターゲットであることが知られていることと合わせて、BES1 転写因子が木部細胞分化における GSK3 キナーゼの下流因子であることが示された。次に、論文提出者は *bes1* の VISUAL における遺伝子発現を、マイクロアレイを用いて網羅的に解析し、BES1 転写因子は木部細胞分化だけでなく篩部細胞分化を促進すること、分化促進は維管束幹細胞から木部・篩部細胞への分化の初期に起こることを明らかにした。これらの成果は、GSK3 キナーゼの下流因子が BES1 転写因子であることを証明しただけでなく、単一の転写因子が2つの分化の初期過程にはたらくことを示したものであり、新たな知見として高く評価された。

シロイヌナズナでは *BES1* は他の5つの遺伝子 (*BZR1*, *BEH1-BEH4*) とともに遺伝子ファミリーを形成する。これまで、BES1 ファミリー転写因子は機能更新型の変異体を用いて解析され、機能欠損型変異体を用いての解析はほとんどなかった。そこで、論文提出者は、BES1 ファミリーの機能欠損変異体を収集するとともに、ないものについては新たにゲノム編集技術により作出した。そして、これら変異体に加え、*bes1* との二重変異体を作成して、BES1 転写因子ファミリーの木部・篩部分化における冗長性を遺伝学的に解析した。まず、一重変異体を用いて VISUAL における表現型を解析したところ、*bzr1* 変異体においても *bes1* よりその程度は低いものの、木部細胞分化が低下した。一方で、他の変異体では単独での表現型はみられなかった。次に二重変異体について解析した。その結果、*bes1 bzr1* 変異体と *beh4 bes1* 変異体では、木部、篩部分化のいずれに関しても *bes1* 変異体の表現型が亢進された。一方で、*beh1* 変異は *bes1* 変異体の表現型に影響しなかった。これらの結果から、BES1、BZR1、BEH4 が木部及び篩部細胞分化を冗長的に促進することが明らかとなった。興味深いことに、*beh3 bes1* 変異体では、*bes1* の表現型が抑制された。この結果は、同一ファミリーの中で、BEH3 は他と違う分化抑制の機能を持つことを示しており、BES1 ファミリーによる維管束制御の進化を考えるうえで重要な知見を提供した。

なお、本論文に記載された研究は近藤侑貴、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。

以上、ここに得られた結果の多くは新知見であり、いずれもこの分野の研究の進展に重要な示唆を与えるものであり、かつ本人が自立して研究活動を行うのに十分な高度の研究能力と学識を有することを示すものである。よって、齊藤真人提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。