

氏名（本籍）	PITAKSARINGKARN WEERASAK （ タイ ）		
学位の種類	博 士 （ 理学 ）		
学位記番号	博 甲 第 6920 号		
学位授与年月日	平成 2 6 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on the Molecular Mechanism of Tissue Reunion in <i>Arabidopsis</i> Incised Inflorescence Stem (傷つけたシロイヌナズナ花茎における組織癒合の分子メカニズムに関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	佐藤 忍
副査	筑波大学講師	博士（理学）	岩井 宏暁
副査	筑波大学助教	博士（農学）	古川 純
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	三浦 謙治

論 文 の 要 旨

植物は傷害という環境刺激に対して、組織の再生・癒合といった適応応答を示すことが知られているが、その分子機構の解明はあまり進んでいない。本研究では、水平方向に直径の約半分まで切断されたシロイヌナズナの花茎の癒合過程の分子機構を明らかにすることを目的とした。今までの研究で、癒合部における細胞分裂が上部器官を切除することで阻害され、オーキシン処理により回復し、オーキシンの極性輸送を阻害すると抑制されることから、癒合にオーキシンが必須であることが明らかになっている。また、切断 1 日後から 3 日後に癒合部において転写制御因子である *ANAC071* と *RAP2.6L* の遺伝子が各々傷の上部と下部で特異的に発現し、オーキシンによって *ANAC071* の発現は正に、*RAP2.6L* の発現は負に制御された。一方で、*ANAC071* および *RAP2.6L* の発現は各々エチレンおよびジャスモン酸によって正に制御された。さらに *ANAC071* や *RAP2.6L* の機能が抑制された形質転換体では、癒合部の細胞分裂の阻害が認められ、各種ホルモンで制御される 2 種の転写制御因子が癒合に重要である事が示された。

本研究では、まず *ANAC071* や *RAP2.6L* の発現がどの様にオーキシンによって制御されているかを明らかにすることを目的とした。オーキシン情報伝達因子 *ARF* の 2 重変異体 *arf6 arf8* では、花茎を傷つけた後の髄の細胞分裂が阻害されたが、単独の変異体では阻害されなかった。また、*ANAC071* や *RAP2.6L* の発現は傷をつけた花茎では抑制されたが、無傷の花茎における *RAP2.6L* の発現は促進された。さらに、ジャスモン酸生合成酵素 *DAD1* の遺伝子発現は傷により誘導されたが、*arf6 arf8* では誘導されなかった。以上から、傷の上部ではオーキシンの蓄積が *ARF6* と *ARF8* の作用を介して *ANAC071* の発現を誘導し、一方、傷の下部ではオーキシンレベルの減少が、オーキシンが *ARF6* と *ARF8* の作用を介して *RAP2.6L* の発現を抑制していたのを解除することで *RAP2.6L* の発現を誘導することが判明した。さらに、*ARF6* と

ARF8 を介したオーキシシンシグナリングは、DAD1 の発現誘導を介したジャスモン酸の合成促進に必須であり、その結果として *RAP2.6L* の発現誘導をもたらすことが明らかになった。

次に、オーキシシンによって誘導される ANAC071 が発現を制御している下流の遺伝の働きを明らかにすることを目的とした。以前に行われたマイクロアレー解析で花茎を傷つけることで発現が上昇することが判明していた細胞壁中のキシログルカンを繋ぎかえる酵素の遺伝子 (*XTH20*) とそれに近い *XTH19* の発現は、ANAC071 と同様に傷の上部で発現し、植物体を横倒しにして茎の上側に傷を付けると、オーキシシンの流れが茎の下側に偏るため、ANAC071 や *XTH20*、*XTH19* の発現が上昇せず、傷の癒合も起きないことが判明した。また、*anac071* 変異体では傷をつけても *XTH20* や *XTH19* が発現しなかった。さらに、ANAC071 タンパク質は *XTH20* や *XTH19* のプロモーターに結合し、それらの発現を制御している可能性が示された。また *xth20 xth19* の 2 重変異体では髄の細胞分裂が起きなかった。

以上より、花茎を傷つけると、極性輸送により傷の上部にたまったオーキシシンが、オーキシシン情報伝達因子 (ARF6 と ARF8) を介して転写制御因子 (ANAC071) を誘導し、ANAC071 が細胞壁中のキシログルカンを繋ぎかえる酵素 (*XTH20* と *XTH19*) の遺伝子発現を誘導することで、髄の細胞分裂に至ることが明らかとなった。

審 査 の 要 旨

傷害に対する組織の再生・癒合といった適応応答現象の理解は植物の環境応答機構を理解する上で欠かすことができないが、その分子機構の解明はあまり進んでいなかった。本研究は、傷を受けたシロイヌナズナ花茎の癒合過程において、オーキシシンが情報伝達因子である ARF6 と ARF8 を介して転写制御因子 (ANAC071) を誘導していること、誘導された ANAC071 が細胞壁中のキシログルカンを繋ぎかえる酵素 (*XTH20* と *XTH19*) の遺伝子発現を誘導し、それらの酵素が傷ついた花茎における髄の細胞分裂に必須であることを示したものである。キシログルカン繋ぎかえ酵素 (*XTH*) の細胞分裂に関わる機能に関しては今後の更なる分子的解析が待たれるものの、傷の上部におけるオーキシシンの蓄積から髄の細胞分裂に至るまでの一連の過程が解明された点が高く評価できる。特に本研究では、細胞壁多糖キシログルカンの繋ぎかえが組織癒合に必須であることが初めて示された。これらの研究結果は、今後の植物の個体レベルでの傷害応答機構の解明に多大な貢献をすることから、その価値は非常に高い。

平成 26 年 1 月 28 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び学力の確認を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (理学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。