

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 *ERECTA* 受容体ファミリー遺伝子群による  
シロイヌナズナ茎頂分裂組織の制御機構の解明

氏 名 木村 友香

## 論 文 内 容 の 要 旨

植物の表皮の細胞層と表皮の下に存在する内部組織は成長の間に異なった機能を発揮する。植物の全ての地上部組織の源である茎頂分裂組織(SAM)も表皮とその内部の組織からなる層構造をとっている。その SAM の内部には幹細胞集団が表皮と内部の両方の細胞層にわたってひとまとまりの集団として維持されており、新たな器官を作り出すための娘細胞を周囲に供給し続ける。しかしながら、これらの幹細胞が性質の異なる複数の細胞層の中でどのような制御を受けて1つの集団として振る舞うのかは未だ解明されておらず、興味深い疑問点である。さらに、SAM は層構造とは別の捉え方においても機能の異なる複数の領域を持つ複雑な組織である。このような複合組織である SAM の恒常性制御においては細胞間コミュニケーションが不可欠であると考えられる。

そこで、本論文では、以前に SAM の恒常性の制御に関わることが報告されている受容体、*ERECTA* (*ER*)ファミリーに着目した解析を行った。シロイヌナズナ *ER* ファミリー遺伝子は互いによく似た *ER*、*ERECTA LIKE1* (*ERL1*)、*ERL2* の 3 遺伝子で構成されており、細胞膜結合型の受容体をコードしている。これまでに *ER* ファミリーは気孔の分布制御や花茎の伸長制御、葉の鋸歯の形成、木部の繊維細胞の分化開始時期の調節など植物の成長において様々な機能を担うことが報告されてきた。SAM においては、*ER* ファミリーの全ての遺伝子が SAM の全域で発現し、*ER* ファミリーの機能欠損三重変異体 *er erl1 erl2* では SAM が肥大した形態を示し、幹細胞の領域も拡大することが報告されていたが、その役割の詳細は明らかとなっていなかった。本研究では、まず *ER* ファミリーと幹細胞の維持に必須の因子として知られてきた *WUSCHEL* (*WUS*)との関係の解析、そして *er erl1 erl2* の SAM の幹細胞の異常を抑制するために *ER* が機能すべき部位の解析を行った。さらに、*WUS* の上流制御因子である *CLAVATA3* (*CLV3*)、*WUS* の下流因子であるサイトカイニンシグナルと *ER* ファミリーとの関わりも解析した。以下にこれらの結果の概略を詳しく述べる。

1. *er erl1 erl2* は *wus* の幹細胞が消失する表現型を回復させる

*er erl1 erl2* 三重変異体の拡大した幹細胞領域は *WUS* の機能を必要とするのかを調べるために、*wus er erl1 erl2* 四重変異体を作成し、SAM の表現型を解析したところ、*wus er erl1 erl2* の SAM は *er erl1 erl2* の肥大した形態を維持し、SAM 内部層の幹細胞マーカーは消失していたものの表皮には幹細胞マーカーの発現を維持していた。この結果から、*er erl1 erl2* の SAM の表皮の幹細胞領域は *WUS* の機能に非依存的に維持されるが、内部に位置する幹細胞の維持には *WUS* の機能が必要となることが明らかとなった。

## 2. 表皮における *ER* の発現は *er erl1 erl2* の SAM と幹細胞の表現型を抑制する

*er erl1 erl2* の SAM における幹細胞マーカーの発現パターンを詳細に解析したところ、SAM の周縁の表皮層に異所的なシグナルが観察された。また、*wus er erl1 erl2* においては SAM の表皮にのみ幹細胞マーカーが維持されていた。これらの結果を受け、表皮での *ER* の機能が SAM の制御にとって重要であると推測した。そこで、*er erl1 erl2* 背景で表皮特異的に *ER* を発現させたところ、SAM と幹細胞領域の肥大が野生型程度まで回復した。*wus er erl1 erl2* で同じ操作を行うと、*wus* 単独変異体と同様の表現型を示した。したがって、表皮で発現する *ER* が SAM の肥大を抑制し、また *WUS* の機能に依存しない幹細胞制御に関わることが示唆された。

## 3. *er erl1 erl2* に対する *CLV3* 添加、サイトカニン阻害の効果は層特異的に現れる

*CLV3* は分泌型ペプチドをコードしており *WUS* の発現を抑制する機能を持つ。そこで *CLV3* と *ER* ファミリーの関係性を解析するために *er erl1 erl2* に *CLV3* ペプチドを投与したところ、この操作で全ての幹細胞マーカーが消失する野生型とは異なり、*er erl1 erl2* では内部組織の幹細胞マーカーは *CLV3* に応答し著しく縮小した一方で、表皮の幹細胞マーカーは *CLV3* に耐性であった。次に、*WUS* は SAM のサイトカニン応答性を促進することで SAM の恒常性を制御する機能を持つため、サイトカニンと *ER* ファミリーの関係性も解析した。*er erl1 erl2* に対してサイトカニンシグナルの阻害を施したところ、全ての層の幹細胞マーカーが影響を受ける野生型とは異なり、*CLV3* 投与時と同様に内部の組織の幹細胞マーカーは著しく縮小したが表皮では耐性であった。すなわち、*er erl1 erl2* の内部の幹細胞層の維持にはサイトカニンシグナルが必須である一方で表皮の幹細胞層の維持にはサイトカニンシグナルは必要とされないと考えられる。これらの結果から、*ER* ファミリーは *CLV3* とサイトカニンによる表皮と内部組織の間での幹細胞の振る舞いの調節に必要であることが示唆された。

以上のように、本論文によりこれまでに報告のなかった *WUS* に依存しない幹細胞制御機構の存在を提示し、その仕組みの中で *ER* ファミリーが重要な役割を果たしていることを示した。また、幹細胞が *CLV3*、*WUS*、サイトカニンから受ける影響を *ER* ファミリーが層ごとに調節していると考えられた。