

Title	Mechanisms determining single epidermal layer formation
Author(s)	飯田, 浩行
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72665
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (飯田 浩行)	
論文題名	Mechanisms determining single epidermal layer formation (表皮運命を最外層に限定する転写・転写後制御)
<p>論文内容の要旨</p> <p>維管束植物において、地上部の表皮は植物体の最外層を覆う組織であり、乾燥や病原菌から植物を保護する役割がある。胚や器官発生で、最終的に最外層に位置する細胞のみが表皮へと分化するため、位置に応じた表皮運命の獲得が示唆される。しかし、これまで植物細胞が最外層を認識して、表皮運命を獲得するしくみは未解明であった。HD-ZIP class IV転写因子をコードする<i>ATML1</i>は、最外層で強く転写され、表皮分化を促進することが報告されている。<i>ATML1</i>を構成的に発現させると、葉の内部にも表皮運命が異所的に誘導されてしまうため、野生型の植物では、<i>ATML1</i>の活性を最外層に限定する必要がある。本研究では、最外層の位置に依存した表皮運命決定機構を解明するために、<i>ATML1</i>の活性制御に注目して解析を行った。</p> <p>まず、<i>ATML1</i>の転写が細胞の位置に応じて誘導されるかを検証するために、葉の表皮を外科的に除去し、内側の葉肉細胞を最外層に露出させる実験を行った。その結果、最外層に露出した葉肉細胞で<i>ATML1</i>の転写が促進されることが明らかになった。さらに外科的・薬理的な解析から、力学環境の変化・微小管形成・MAPK経路・タンパク質分解が表皮除去後の葉肉細胞における<i>ATML1</i>の転写促進に必要であることが示唆された。</p> <p>また、<i>ATML1</i>の転写後調節についても解析を行った。胚において<i>ATML1</i>の発現パターンを観察したところ、<i>ATML1</i>は最外層で強く転写が見られるが、胚内部の細胞でも弱く転写されることが分かった。しかし、<i>ATML1</i>タンパク質の蓄積は最外層の細胞に限定されており、胚内部の細胞ではほとんど検出できなかった。これらの観察から、胚内部の細胞では、<i>ATML1</i>タンパク質の蓄積が検出限界以下まで抑制されることが示唆された。また、<i>ATML1</i>タンパク質の核局在が抑制されており、最外層の細胞に比べ胚内部の細胞でより強く核局在が抑制されることも明らかになった。従って、これら二つの転写後抑制により<i>ATML1</i>の活性が最外層に限定されることが示唆された。さらに、これらの転写後抑制には、<i>ATML1</i>の二量体形成に関わるZLZドメインをコードする配列が必要であることも明らかにした。</p> <p>本研究から、以下のような表皮分化のモデルが提案できる。位置に応じた転写促進により、<i>ATML1</i>の転写は最外層の細胞で強く誘導され、核に蓄積した<i>ATML1</i>タンパク質が表皮運命を誘導する。内側の細胞でも<i>ATML1</i>は弱く転写されるが、転写後抑制により<i>ATML1</i>タンパク質の活性が内側の細胞で強く抑制されるため、内側の細胞では表皮分化が誘導されない。このように、転写促進と転写後抑制の組み合わせにより、<i>ATML1</i>の活性が最外層に限定され、最外層の細胞のみが表皮に分化すると考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (飯田 浩行)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	柿本 辰男
	副 査	教授	松野 健治
	副 査	教授	西田 宏記
	副 査	助教	高田 忍

論文審査の結果の要旨

植物の細胞運命は位置に応じて決まる。そのため、細胞が個体内での位置を認識し、遺伝子の発現や活性を調節するしくみがあると考えられるが、位置情報の正体やその伝達経路はあまりわかっていない。本論文では、位置に応じた細胞運命決定のしくみを解明するために、表皮分化に注目した研究がなされた。シロイヌナズナの表皮は胚の最外層の細胞のみから形成される。HD-ZIP class IVファミリーに属する *ATML1* は表皮分化のマスター制御因子と考えられており、最外層の細胞で強い発現が見られる。本研究においては、*ATML1* の活性を最外層に限定する転写・転写後調節機構を明らかにすることで、最外層特異的な表皮分化の機構を明らかにすることが目標とされている。

ATML1 の転写が位置に応じて制御されるかを検証するために、葉の表皮を外科的に除去し、葉肉細胞を表面に露出させる実験が行われた。その結果、最外層になった葉肉細胞で *ATML1* プロモーターの活性が上昇することがわかり、*ATML1* の発現が最外層で促進されることが示唆された。さらに、*ATML1* の転写促進に必要な因子やシグナル伝達経路を探索するために、外科的・薬理学的な解析がなされた。その結果、力学環境の変化、微小管の形成、MAPK 経路やタンパク質分解経路が表皮除去後の葉肉細胞における *ATML1* の転写促進に必要であることが示唆された。

遺伝子の活性は転写後に制御される例が知られているため、*ATML1* の転写後調節の可能性についても検討された。まず、*ATML1* の発現を胚で観察したところ、最外層で *ATML1* の強い発現が見られたが、胚内部の細胞でも弱く転写されることが示された。しかし、*ATML1* タンパク質の蓄積は最外層でのみ観察されたため、胚内部では、*ATML1* の蓄積が転写後制御によって抑制されると考えられた。さらに、*ATML1* の核局在が、胚内部の細胞では最外層の細胞に比べてより強く抑制されることが示された。これらの結果から、多段階の転写後抑制によって *ATML1* の活性が最外層に限定されることが示唆された。

本論文の結果から、転写促進と転写後抑制により *ATML1* の活性が最外層に限定され、位置依存的に最外層で表皮が分化することが明らかにされた。これらの知見は、植物の細胞運命の決定機構の総括的な理解に貢献することが期待できる。以上により、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。