博士論文内容の要旨及び 審査結果の要旨

生命科学第17集(課程博士)

(令和元年度授与)

東 北 大 学

令 和 元 年 度

かが ゆうき

氏名 加賀 悠樹

学 位 の 種 類 博士(生命科学)

学位記番号 生博第393号学位授与年月日 令和2年3月25日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

研究科, 専攻 東北大学大学院生命科学研究科

(博士課程) 分子生命科学専攻

論 文 題 目 A study on molecular mechanisms of haustorium

development mediated by interspecies signaling between $Cuscuta\ campestris$ and the host plant (アメリカネナシカ ズラと宿主植物の種間情報伝達を介した吸器形成の分子機構

の研究)

博士論文審査委員 (主査) 教授 経塚 淳子

 教授
 田村
 宏治

 教授
 田中
 耕三

During evolution of land plants, which originated as autotrophic organisms, some angiosperms have evolved parasitism. Currently, parasitic angiosperms account for more than 1% of angiosperm species. Typical parasitic plants parasitize either stems or roots of host plants via de novo formation of a distinctive parasitic organ called a haustorium, through which they absorb water and nutrients form the host plant.

All species of the genus *Cuscuta*, which lack proper root and leaves, cannot survive without parasitizing the host plant. Instead they have evolved to be capable of developing haustoria in their stem, and can parasitize stem of a wide range of vascular plants. Thus *Cuscuta* species are classified as stem parasitic holoparasitic angiosperms. In the developing haustorium, meristematic cells, which are initiated from the cortex of the stem, differentiate into haustorial parenchyma cells, which elongate, penetrate into the host tissues and finally connect with the host vasculature. This interspecific vasculature connection allows the parasite to uptake water and nutrients from the host plant. Although histological aspects of haustorial development have been studied extensively, the molecular mechanisms underlying vasculature development and the interspecific connection with the host vasculature remain largely unknown.

In this study, I intended to reveal the molecular mechanisms regulating the haustorium development and subsequent interspecific connection with the host plant vasculature. Therefore, I investigated possible involvement of the interspecific cell-to-cell signaling between host plant and parasitic plant during the haustorium development of *Cuscuta campestris*. Time-course observation of the process of haustorium formation showed that xylem formation in the haustorium was initiated at haustorial tip cell, which had penetrated the host xylem, then proceeded basipetally, and eventually connected with the xylem in the *Cuscuta* lateral shoot. In the other organ of angiosperms, intercellular communication involving some phytohormones and ligand-receptor signaling pathways regulates vascular patterning, cell fate and cell differentiation. Based on my observations and the previous studies about vascular formation, I hypothesized that *C. campestris* receives host-derived signaling factors which trigger xylem vessel cell differentiation in haustorium upon intrusion of haustorium into host xylem, and

initiates xylem formation in the parasitic organ.

Accordingly, to gain insights into the interspecific cell-to-cell interactions involved in haustorium development, I established an in vitro haustorium induction system for C. campestris using Arabidopsis thaliana rosette leaves as the host plant tissue. The in vitro induction system was used to show that interactions with host tissue were required for the differentiation of parasite haustorial cells into xylem vessel cells. To further characterize the molecular events occurring during host-dependent xylem vessel cell differentiation in C. campestris, I performed a transcriptome analysis using samples from the in vitro induction system. The results showed that orthologs of genes involved in development and proliferation of vascular stem cells were up-regulated even in the absence of host tissue, whereas orthologs of genes required for xylem vessel cell differentiation were up-regulated only after some haustorial cells had elongated and intruded into the host xylem. This result was confirmed by another transcriptome analysis of the haustrorium development in C. campestris undergoing parasitization of an intact host plant. These findings suggest the involvement of host-derived signals in the regulation of non-autonomous xylem vessel differentiation and its connection to the host xylem during the haustorium development by activating a set of key genes for differentiation into xylem vessel cells.

論文審査結果の要旨

寄生植物は、被子植物の進化の過程で 10 回以上も独立に出現し、その種類は被子植物の約 1%に達するもので、他の植物への寄生が植物の有効な生存戦略の1つであることが示唆されている。寄生植物は、吸器と呼ばれる特殊な寄生器官を宿主に侵入させ、寄生植物と宿主の維管束を繋げることで、生存に必要な養水分を吸収するが、この寄生機能の分子機構については未解明な点が多い。

本研究では、寄生植物の吸器における維管東形成・連結の分子機構を解明するために、 茎寄生植物のアメリカネナシカズラを実験材料として、宿主への寄生を制御できる実験系 を開発し、吸器の維管東形成・連結の過程を解析した。本実験系によって、宿主組織内に 侵入した吸器の探索糸が宿主の維管東組織に到達することで、探索糸の道管分化が開始し、 さらに探索糸からアメリカネナシカズラの維管東に向かって道管分化が進行することで、 宿主とアメリカネナシカズラの道管が連結することを明らかにした。また探索糸の宿主維 管東組織への侵入と道管分化との関連性を調べるために開発した *in vitro* 実験系によって、 吸器形成は物理的な刺激だけで誘導することができるが、探索糸の道管分化には宿主維管 東組織が必須であることを明らかにした。

吸器における道管分化の過程を分子レベルで理解するために、宿主に寄生したアメリカネナシカズラの吸器の遺伝子発現を発生段階ごとに解析するとともに、in vitro 実験系を用いて、宿主維管束組織の存在下と非存在下での吸器発生過程の遺伝子発現の比較解析を行った。本結果から、維管束間細胞と道管前駆細胞の分化に関わる遺伝子は宿主維管束組織とは独立に吸器で発現するが、二次細胞壁の肥厚・硬化やプログラム細胞死などの最終的な道管分化に関わる遺伝子は宿主維管束組織の存在下でなければ発現しないことが明らかになった。

以上の研究結果を通して、アメリカネナシカズラの吸器は道管分化のための潜在的な能力を自律的に有するが、最終的な道管分化には宿主の維管束組織からの情報伝達が必要であることが示された。これまで未解明であった寄生植物の維管束形成・連結の分子機構を宿主からの情報伝達という独自の視点から解明したことは、自立して研究活動を行うに必要な高度な研究能力と学識を有することを示している。したがって、加賀悠樹提出の論文は、博士(生命科学)の博士論文として合格を認める。