

氏 名	大 門 靖 史
学位の種類	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2702 号
学位授与の日付	平成 15 年 7 月 23 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	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	シロイヌナズナの不定芽形成過程における <i>CUC1</i> および <i>CUC2</i> の機能

論文調査委員 (主 査) 教授 長谷あきら 教授 岡田清孝 助教授 荒木 崇

### 論 文 内 容 の 要 旨

植物は胚発生過程に胚上端に茎頂分裂組織 (SAM) を形成する。そして、発芽後、この組織は葉や茎といった器官を形成する。また、多くの植物種において、既に分化した器官からカルスを誘導し、さらに不定芽を誘導することで植物体を再生できる。再生した植物体は元の植物と遺伝子型を同じくするクローンであり、古くから応用を視野に入れた多くの研究がなされてきた。しかし、分子遺伝学的な解析はあまり進んでいない。この不定芽形成過程においても新たな SAM の形成が行われる。SAM がどのように作られるか、また、そこから各器官がどのように作られるかを明らかにする事は植物の体のつくりを理解する上でもっとも根幹と成る命題である。本研究において、双子葉植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を材料に、カルスの不定芽過程で SAM が形成される機構に関する分子遺伝学的な解析が行われた。

シロイヌナズナでは、胚発生過程における SAM の形成に必要な遺伝子として NAC ボックスを含む *CUC1* (*CUC: CUP-SHAPED COTYLEDON 1*) および *CUC2* が単離されている。既に、*CUC1* と *CUC2* の両方に変異が入ると (*cuc1 cuc2*) 胚発生過程で SAM 形成が行われぬのみならず、一方もしくは両方に変異が入るとカルスから形成される不定芽数が減少することが示されていた。そこで、これらの遺伝子をカルスで過剰発現させたところ、これらの遺伝子が不定芽形成を促進することが明らかになった。一般に、カルスからの不定芽形成には、植物ホルモンのオーキシシンとサイトカイニンが重要な役割を担う。そこで、*cuc1* や *cuc2* およびこれらの遺伝子を過剰発現させたカルスをオーキシシンおよびサイトカイニンの濃度を変えた不定芽誘導培地で培養したところ、これら全てにおいて不定芽形成のホルモンに対する応答性に変化はなかった。このことは、*CUC1* および *CUC2* がホルモンの生合成や情報伝達経路には関与していないことを示唆する。また、*cuc1* と *cuc2* カルスを不定芽形成培地で数日培養した後にホルモンを含まない培地へ移すことで、これらの遺伝子は不定芽形成における分化誘導段階から分化段階へ移行する際の運命決定に関与する可能性が示唆された。胚発生過程において、*STM* (*STM: SHOOT MERISTEMLESS*) 遺伝子も SAM の形成に必須であり、胚発生過程で *CUC1* および *CUC2* は *STM* の転写を活性化することで SAM の形成を促進することが示されている。*stm-1* 変異体のカルスを用いて解析を行った結果、不定芽形成過程においても *STM* は SAM 形成に必須であり、*CUC1* および *CUC2* の遺伝的下流で働いていることが示された。これらの結果から、*CUC1* および *CUC2* は不定芽形成過程において、1. 不定芽形成を促進する機能がある、2. *STM* の遺伝的上流で機能している、3. ホルモンに依存した分化誘導過程の後で機能している事が明らかになった。そして、これらの結果に基づいて不定芽形成過程における *CUC1* および *CUC2* が不定芽形成を促進するメカニズムについてモデルを提唱している。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

双子葉植物の体制は胚発生過程で確立し、発芽後は、芽生えの両端に有る茎頂分裂組織と根端分裂組織から新しい器官が次々と作られることで植物全体が作られる。植物の地上部の形成で最も重要な働きをする茎頂分裂組織そのものの形成の分

子メカニズムに関する研究はまだ端緒についたばかりである。この組織は、胚発生過程、側枝形成過程、不定芽形成過程で作られる。申請者は、カルスからの不定芽形成過程における茎頂分裂組織の形成機構を分子レベルで解明することを目的としてシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の *CUC* (*CUP-SHAPED COTYLEDON*) を用いた研究を行った。

本論文の成果は大きく3つに分けられる。1つは、*CUC1* および *CUC2* 遺伝子がカルスからのSAM形成過程で形成を促進する遺伝子として機能する事を明らかにした点である。それは、*cuc1* あるいは *cuc2* 変異株からの不定芽形成数が減少し、2重変異株ではその減少が著しい事、逆にこれらの遺伝子を過剰発現させたカルスからは不定芽が多数形成された事から明確に示された。カルスからの不定芽形成過程で機能する重要な遺伝子が同定されたのは初めてであり高く評価できる。

2つめは、カルスからの茎頂分裂組織形成過程においても胚発生の場合と同様にこれら *CUC* 遺伝子の下流で *STM* (*SHOOT MERISTEMLESS*) 遺伝子が機能する事を明らかにした点である。これは、胚発生過程と不定芽形成過程で類似の分子機構が機能する可能性を示唆しており、茎頂分裂組織形成の分子機構を解析するためにカルスから不定芽を形成する実験系が有効である事を示した。この過程は胚発生に比べて扱いやすく、また、早く定量的に解析できる点で優れている。

3つめは、*CUC* がカルスからの茎頂分裂組織形成の後期において最終的に発生運命が決定される頃に働き、植物ホルモンにより茎頂分裂組織の誘導が起こった後で機能する事を示唆した事である。これまで、カルスからの不定芽形成でホルモンが重要な働きをする事は古くから良く知られていたがその作用機構は全く不明であった。この成果は、この点を明らかにする手がかりと成りうる。

以上のように申請者はカルスからの不定芽形成に関する分子遺伝学的な解析を初めて本格的に行い、それを基に特に茎頂分裂組織の形成に関して新しい事実と今後の研究の方向性を示した。そして、この研究は植物のカルスからの効率的な再生に関する重要な遺伝子の存在を明らかにした事になり、今後農学等で応用の可能性が大きい。この点から考えてこの論文の意義は高く、博士(理学)の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、主論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。