

氏名	たか だ しのぶ 高 田 忍
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2377 号
学位授与の日付	平 成 13 年 5 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	茎頂分裂組織の形成と器官分離に関わる CUC 遺伝子の分子遺伝学的研究

(主 査)
論文調査委員 教 授 長 谷 あ き ら 教 授 岡 田 清 孝 教 授 西 村 い く こ

論 文 内 容 の 要 旨

双子葉植物の芽生えでは2枚の子葉の間に茎頂分裂組織 (SAM) が分化している。発芽後, SAMは先端部に未分化な細胞を維持しながら, 栄養成長期に葉を次々につくり, 生殖成長期にSAMの一種と考えられる花芽分裂組織 (FM) を作る。そして, FMはがく・花弁・雄しべ・心皮の各器官をつくりさらに胚珠を形成する。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が植物の体づ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, 胚発生過程でSAMが形成されてくる機構に関する分子遺伝学的な解析が行われた。

cup-shaped cotyledon (*cuc*) 突然変異体は子葉が互いに融合してカップ型になり, SAMを欠失しているため芽生えで致死である。この変異体の遺伝解析から, *cuc* 変異は機能的に重複したCUC1およびCUC2遺伝子座の二重突然変異に起因する事が示されていた。また, 表現型の解析から両遺伝子は協調して胚発生過程におけるSAM形成と, 子葉や花の側方器官 (がく, 雄しべ) を一つ一つに分離する機構に関与する事が示唆されていた。CUC2は既にクローニングされNACドメインと名付けた植物に特有のドメインをN末側に持つタンパク質をコードする事が示されていた。今回本論文ではじめてCUC1遺伝子を染色体上の位置を基にクローニングした。この遺伝子はCUC2遺伝子と相同性が高く, やはりN末側にNACドメインを持つタンパク質をコードしていた。CUC1遺伝子は胚発生過程で子葉原基の間の将来SAMが形成される所に特異的に発現し, 発生が進みSAMが形成されるとSAMからは発現がなくなり2枚の子葉間および子葉とSAM間で発現していた。発芽後もSAMと葉原基の間, 花序分裂組織と花分裂組織の間, 花分裂組織と花の各器官や各器官の間等で特異的に発現していた。これらの発現はCUC2の発現と極めて類似しており, また, 変異株の表現型から予測された機能部位と良い一致を示した。驚いた事に, CUC1を異所的に過剰発現させる形質転換植物は子葉や本葉の上から異所的にシュートを形成した。そして, この形質転換植物の子葉ではSAM形成で重要な働きをされると考えられているSTM (shoot meristemless) やKNAT1といったKN1クラス-1型ホメオボックス遺伝子が異所的に発現していた。これらのことから, CUC1はCUC2同様にSTMやKNAT1の発現を誘導する事でシロイヌナズナのSAMの形成に関与する可能性が示された。

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体全体が作られる。現在までに, 植物の体作りの分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。そこで申請者は, 茎頂分裂組織の形成やそこから側生器官が形成される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* 変異体を用いた研究を行った。

本論文は大きく3つに分けられる。1つは, CUC1遺伝子のクローニングである。*cuc* 変異株はCUC1とCUC2遺伝子

の2重変異で生じるが、CUC2は既にクローニングされていた。申請者は、CUC1の染色体上の位置を基にこの遺伝子をクローニングした。この変異株は致死でありアリルが1つしか存在しなかったが、大変な努力で cuc1 変異の新しいアリルを複数取り、それらを用いてマッピングを行いクローニングした。そしてこの遺伝子も CUC2 と良く似た NAC ファミリーの遺伝子である事を証明した。この遺伝子のクローニングはもちろんはじめてであり評価できる。2つめは、野生型の植物の発生過程における CUC1 遺伝子の時間的・空間的な発現パターンの解析である。この発現は大筋では CUC2 の発現と重なった。そして、変異株の表現型と比較することでこれらの遺伝子が発現した場所で機能する可能性が示された。3つめは、CUC1 の機能解析の一つとして、この遺伝子を異所的に過剰発現した形質転換植物の解析である。作成した形質転換植物において子葉の上の特定の2ヶ所に切れ込みが生じ、その間の細胞は表皮細胞に分化せず小さな細胞のまま残り、しかもそこからしばしば不定芽が生じる事が明らかになった。また、頻度は低いが本葉の上にも不定芽が生じる事も示された。そして、この過程で茎頂分裂組織形成で重要な働きをする STM や KNAT1 遺伝子の異所的な発現を引き起こす事も明らかにした。この成果は、茎頂分裂組織形成の分子機構を明らかにする重要な発見であり高く評価できる。

以上のように申請者は CUC1 のクローニング、基礎的な発現解析のデータを着実に積み重ね、それを基に特に茎頂分裂組織の形成に関して独自の新しい事実を示し、それを基に今後の研究の方向性を示した。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る。

なお、平成13年3月2日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。