

氏名	まつもと のり たか 松本 任 孝
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2413 号
学位授与の日付	平成 14 年 1 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	シロイヌナズナ突然変異体を用いた横軸依存的な器官形成機構の分子遺伝学的解析
論文調査委員	(主 査) 教授 岡田清孝 教授 西村いくこ 教授 長谷あきら

論 文 内 容 の 要 旨

植物の発生において花や側生器官は分裂組織から形成される。分裂組織から器官が形成される時には分裂組織を基準軸として器官に向背軸、横軸の2つの軸を想定することができる。向背軸とは分裂組織と器官の中心を結ぶ軸で、分裂組織から離れている方を背軸側、分裂組織に面している方を向軸側という。また、横軸は向軸側と背軸側の境界に沿った軸である。花や側生器官の構造は向背軸、横軸の2つの軸の存在を反映している。向背軸に依存した発生機構に関与する遺伝子はこれまで報告があるが、横軸依存的な発生機構に関与する遺伝子は知られていなかった。

シロイヌナズナの野生型の花は背軸側、向軸側に各1枚、横側に2枚のがく片をもっている。*pressed flower (prs)* 突然変異体は横側のがく片が失われたり未成熟になるという表現型を示した。また、野生型のがく片ではその周縁部に特徴的な細胞列がみられるが、*prs* 突然変異体のがく片の周縁部ではその細胞列が失われていた。花卉、雄しべ、葉の周縁部には異常はみられなかった。花器官のホメオティック変異を示す突然変異体や花芽分裂組織の大きさが異常になる突然変異体との2重突然変異体の解析から、*PRS* 遺伝子が花器官のアイデンティティの決定機構および花芽分裂組織の大きさの決定機構と独立に機能していることがわかった。また、内側の whorl に形成される器官の周縁部でも *PRS* 遺伝子が機能することも示唆された。

ポジショナルクローニング法によって *PRS* 遺伝子を単離したところ、*PRS* 遺伝子は N 末端に WUS タンパク質のホメオドメインとよく似たホメオドメインをもつ244アミノ酸からなるタンパク質をコードしていた。また、*PRS-GUS* 融合タンパク質をタマネギ表皮細胞で一過的に発現させたところ核局在が示唆された。*PRS* 遺伝子の過剰発現体では植物体の様々な器官において表皮細胞の異常な増殖がみられた。このことから *PRS* 遺伝子は転写因子として機能し、細胞増殖を促進すると考えられた。

in situ ハイブリダイゼーションをおこなったところ、がく片が生じる前のステージ1の初期の花原基の横側と、がく片、花卉、雄しべの周縁部で発現がみられた。この発現パターンは花卉と雄しべの周縁部をのぞいて突然変異体の表現型から予想されたとおりであった。また、若い葉の横側でも *PRS* 遺伝子の発現が確認できた。これらのことから *PRS* 遺伝子は、花および側生器官の横側領域で発現しており、花および側生器官の形成において横軸依存的な発生機構に関与していることが強く示唆された。

向背軸に依存した花の形成機構に異常がみられると考えられる突然変異体との2重突然変異体の解析から向背軸依存的な遺伝子と *PRS* 遺伝子の遺伝学的相互作用が示唆された。また、雄しべにおいて横側特異的に発現する *PRS/WUS* タイプのホメオドメインをコードする *MEB5.20* 遺伝子を単離した。このことから横軸依存的な発生機構に関与する遺伝子群の存在が示唆された。

以上の結果から、植物の器官形成における横軸依存的な発生機構の一端をあきらかにすることができた。

本研究ではユニークな表現型を示す突然変異体を出発点に原因遺伝子の単離および解析を中心とした分子遺伝学的な解析

がおこなわれた。花の形態形成をあきらかにするために、これまで花器官のホメオティックな変化を指標に多数の突然変異体が単離され、盛んに解析されてきた。その結果、花器官のアイデンティティの決定機構を説明する ABC モデルと呼ばれるモデルが提唱された。これらの突然変異体の原因遺伝子の単離を含む分子遺伝学的な解析によって、ABC モデルの正しさが検証されてきた。花器官のアイデンティティに注目するために、このモデルでは花の構造を4つの同心円状の領域に単純化することが必須であった。しかし、花の構造の解析のためには花器官のアイデンティティとは別に花器官が形成される位置が重要な意味をもってくる。本研究は花器官の位置が向背軸と横軸という2つの軸に依存して決定されているという考えに基づいている。これまでに花の向軸側と背軸側の細胞運命の決定に関わると考えられる遺伝子が単離されていたが、横軸依存的な花の形成に関与する遺伝子は単離されていなかった。この研究では横側のがく片に異常がある *prs* 突然変異体に注目し解析をおこなっている。従来の花形態形成の研究とは異なる視点で突然変異体を単離し解析をおこなった点は評価に値する。

prs 突然変異体では横側のがく片の形成だけでなく、がく片の横側領域に形成される周縁組織の形成にも異常がみられた。また、葉、花器官、花においてそれぞれ器官が形成される分裂組織にたいして横側の領域で *PRS* 遺伝子の発現がみられた。さらに *PRS* 様のホメオドメインをコードする新規の遺伝子である *MEB5.20* 遺伝子の発現が雄しべにおいて横側領域で見られることをあきらかにした。これらの結果は、横軸依存的な発生機構が葉、花器官、花の形態形成過程において共通なメカニズムをもっていること、横軸依存的な発生機構に関与する遺伝子群が存在することを強く示唆するものである。これらの知見は植物の器官形成における横軸依存的な発生機構の一端を分子レベルであきらかにした点において評価できる。

2重突然変異体の解析から *PRS* 遺伝子が花器官のアイデンティティの決定機構および花芽分裂組織の大きさの決定機構と独立に機能することをあきらかにしている。*PRS* 遺伝子が横軸依存的な発生機構に関与することから、軸依存的な花の形態形成機構は花器官のアイデンティティや花芽分裂組織の大きさととは独立の遺伝的メカニズムによるものであることが強く示唆されている。花の形態形成に関与する新しい遺伝的メカニズムをあきらかにした点において、本研究は評価できる。

今後、植物発生学において、植物における軸性の形成、および軸に基づいた器官形成の分子機構の解明は大きな課題であり、本研究で得られた知見はこの問題の解明に貢献することが期待される。

よって審査の結果、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認め、論文内容とそれに関連した口頭試問をおこなった結果、合格と認めた。