

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐藤奈美子

植物の地上部は、胚発生で分化した茎頂分裂組織 (SAM) の活性の産物であるため、植物の形作りを理解し、またシュートの人為的制御を展望するためには、SAM の分化、維持機構の解明が不可欠である。本研究は、イネの SAM の分化および維持過程に異常が見られる変異体を用い、SAM の分化から維持に至る遺伝的プログラムの解明を目的としたものである。

まず、5 遺伝子座に由来する、SAM を欠失する *shootless (shl)* 変異体 (*shl1* ~ *shl5*) の解析を行った。ほとんどの *shl* 変異体では、胚発生過程で SAM が分化せず、完成胚では、シュート (SAM と 3 枚の本葉)、鞘葉およびエピブラストが欠失した。しかし、幼根と胚盤は正常に分化していた。従って、SHL 遺伝子は SAM の分化に不可欠であること、幼根と胚盤は SAM と独立に分化することが明らかになった。また、*shl* 変異体のカルスからの再分化試験により、SHL1、SHL2 および SHL4 遺伝子は、SAM の分化に一般的に必要なことが明らかになった。イネの胚発生初期に SAM の分化予定領域で発現するホメオボックス遺伝子 *OSH1* の発現パターンから、SHL1、SHL2 および SHL4 遺伝子は *OSH1* の上流で、SAM 分化領域の確保に機能し、SHL3 および SHL5 遺伝子は *OSH1* の下流あるいは *OSH1* とは独立に SAM の分化に必要なことがわかった。

*shl* 変異体では SAM が分化しないため、SHL 遺伝子の SAM 分化後の機能は明らかでない。そこで、弱い表現型を示す 3 系統の *shl2* 変異体 (*shl2-6* ~ *shl2-8*) と 1 系統の *shl1* 変異体 (*shl1-3*) を同定した。*shl2-6* ~ *shl2-8* の間では、胚での *OSH1* の発現領域の広さ、SAM 分化頻度および SAM が維持される期間の間に、正の相関が認められた。なお、*shl1-3* 変異体は、*shl2-8* 変異体と同様の表現型を示した。*shl1-3* および *shl2-8* の植物体は、葉形、葉の組織、葉序および葉間期などに異常が見られた。SAM は扁平で、*OSH1* の発現領域は狭く、細胞分裂 S 期に特異的に発現する *histoneH4* 遺伝子の発現にも異常が見られ、SAM のオーガニゼーションが異常であることが示された。また、いずれの変異体も 2 ヶ月以内に枯死するが、その過程では、SAM 内の未分化な細胞が減少し、外側の細胞から葉のアイデンティティを獲得し、や

が SAM が消失することがわかった。表現型が類似する *sho2* との二重変異体は、*shl2* 変異体と同じ表現型を示した。したがって、*SHL1* および *SHL2* 遺伝子は、*SHO2* 遺伝子の上流で、SAM の分化だけでなく、維持にも関わっており、さらに、葉の分化や形態形成にも必要であることが明らかになった。

既に同定した *SHL* 遺伝子以外にも、多くの遺伝子が SAM の分化に関わっていると考えられる。そこで茎頂分裂組織の維持に異常が見られる変異体 16 系統を同定し解析した。それらは、SAM だけでなく、植物体の他の部分（葉、根、SAM の直下の茎、分けつ芽）にもさまざまな異常を示した。特に、*odm129* 変異体では、胚発生の遅れ、扁平でオーガニゼーションの異常な SAM、不規則な葉序、形態異常の葉などの多様な表現型が見られた。さらに、二重変異体の解析により、*odm129* の野生型遺伝子は、*SHL2* 遺伝子および *SHO1* 遺伝子と共同して SAM の分化および維持に関与していることが明らかになった。

SAM が胚の中で正常な位置に分化するためには、胚の領域分化が正しく行われる必要がある。そこでシュートや幼根が複数分化する *aberrant regionalization of embryo 3 (are3)* 変異体を用いて胚の領域化を解析した。*are3* 変異体の完成胚では、約 50% の個体で、SAM および幼根、あるいはいずれかが増加し、さらに胚盤の増加も見られた。SAM、幼根および胚盤の増加の間には、有意な相関が認められた。増加する場合にも、胚盤—SAM—幼根という位置関係は維持されていた。また、*are3* 変異体の初期胚での *OSH1* の発現は、背側方向に拡大していた。したがって、*are3* 変異体では、胚の先端部—基部軸に沿ったパターン形成はほぼ正常であるが、背腹軸に沿った領域分化に大きな異常があり、*ARE3* 遺伝子は、イネの初期胚において背側の領域の広さを規定していると考えられた。さらに、二重変異体の解析から、*SHL2* 遺伝子と共同して SAM の分化領域の確保を促進していることが明らかになった。

以上、本研究は、イネのシュートの構築に最も重要な茎頂分裂組織の分化、維持機構に関わる遺伝子を多数同定し、その機能を詳細に解析したものであり、学術上、応用上価値が高い。よって、審査員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。