

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山口 貴 大

花は植物の生殖を司る重要な器官であり、生殖器官である雌ずい（心皮）や雄ずいの発生を制御する分子機構を解明することは、花の発生を理解するうえで最も重要な課題である。シロイヌナズナなどの双子葉植物においては、花器官のアイデンティティーの決定は ABC モデルにより説明されることが明らかにされているが、単子葉植物においては未だに十分な知見は得られていない。また、葉はその形態が高等植物の間で大きく多様化している。本研究においては、単子葉植物のイネを研究材料として、花器官の決定機構や葉の形態形成を支配する遺伝子の機能を解明すること、植物の形態の進化や多様性をもたらす遺伝的メカニズムを明らかにすること、さらには、イネの形態改変による育種の応用のための基礎的知見を得ることを目的として研究を行った。

本論文は、研究の背景を詳述した序論、研究成果とその考察に関する4つの章および総合考察から構成されている。第1章では、イネの心皮アイデンティティーを制御する *DROOPING LEAF* 遺伝子の単離と解析、第2章では、2つのクラス C 遺伝子 (*OsMADS3*, *OsMADS58*) の機能解析、第3章では *DL* 遺伝子をはじめとする花器官決定遺伝子間の遺伝的相互作用、第4章では、*DL* 遺伝子のもう一つの機能である中肋形成の制御機構に関して、分子遺伝学的研究手法により明らかにされた研究成果とその考察を詳細に記述している。最後に、これらの成果を総合してイネの花の器官決定を制御する遺伝学的分子機構を総合的に考察するとともに、これを制御する遺伝子機能の進化と多様化に関する考察を加えている。

(1) 心皮のアイデンティティー決定を制御する *DROOPING LEAF* 遺伝子の単離と解析

イネの *dl* 変異体では、花の雌ずいが雄ずいへとホメオティックに転換する。この変異の原因となる遺伝子をポジショナルクローニング法により単離した結果、*DL* 遺伝子は植物特有の転写因子をコードする *YABBY* 遺伝子であることが明らかとなった。時間的・空間的発現パターンを解析したところ、*DL* 遺伝子は心皮原基が分化する予定領域および発生中の心皮原基で特異的に発現していた。*dl* 変異体の表現型と総合し、*DL* 遺伝子はイネの花の発生において心皮の決定を制御していると結論した。また、*DL* 遺伝子が花分裂組織の有限性も制御していることを明らかにした。シロイヌナズナの *DL* オーソログである *CRABS CLAW (CRC)* 遺伝子の機能喪失変異体では部分的に心皮が異常になるが、ホメオティックな転換は起こらない。したがって、イネの進化過程で、*DL* 遺伝子が心皮の決定に関してより重要な機能を担うようになってきたと推定される。

(2) クラス C 遺伝子、*OsMADS3* および *OsMADS58*, の解析

イネにおけるクラス C の MADS ボックス遺伝子の機能を明らかにすることを目的として研究を進め、これまで知られていた *OsMADS3* 遺伝子に加え、もう一つのクラス C 遺伝子である *OsMADS58* 遺伝子を単離した。ノックアウト変異体や RNAi による遺伝子抑制形質転換体などを用いて解析を進めた結果、*OsMADS3* 遺伝子と *OsMADS58* 遺伝子は、*whorl3* および *whorl4* で特異的に発現し、りんび数の制御、雄ずいの決定、花分裂組織の有限性の制御という共通した機能を持つことが明らかとなった。しかし、これら 2 つの遺伝子は、*whorl* 依存的にその機能の重要性が異なっていることが示され、*whorl3* における雄ずいの決定には *OsMADS3* 遺伝子が、*whorl4* における花分裂組織の有限性の制御には *OsMADS58* が、より主要な機能を担っていることが明らかとなった。また、いずれの変異体や 2 重変異体でも、心皮様器官が形成されることから、*DL* 遺伝子が心皮決定に重要であることがさらに強く示された。

(3) 花器官決定遺伝子間の遺伝的相互作用

次に、種々の変異体や形質転換体を用いて、これらの花器官決定遺伝子間における遺伝的相互作用を解析した。その結果、*DL* 遺伝子と *SPW1* や *OsMADS4* などのクラス B 遺伝子は互いに負に制御し合っていること、*DL* 遺伝子と 2 つのクラス C 遺伝子は互いに独立に機能していることを明らかにした。また、*OsMADS4* 遺伝子の発現が *SPW1* 遺伝子により維持されることが示され、クラス B 遺伝子は、シロイヌナズナ同様、自己制御系によりその発現が維持されていることが示唆された。

(4) 中肋形成における *DL* 遺伝子の機能解析

dl 変異体においては、葉の中肋が形成されない。野生型および *dl* 変異体における中肋の発生様式を観察したところ、野生型の葉原基においては中央部の細胞が向背軸方向に増殖し、厚みを増した中央領域に中肋が形成されるのに対し、*dl* 変異体ではこの中央部における細胞増殖が起こらないことが示された。野生型における *DL* 遺伝子の発現パターンは、細胞増殖が盛んに起こる葉原基中央部に局在していた。また、*DL* 遺伝子の構成的に発現する形質転換体を作成したところ、葉原基中央部のみならず周縁部においても盛んな細胞増殖を示すことが観察され、この領域に中肋様構造が異所的に形成された。これらの結果を総合して、*DL* 遺伝子は、野生型において葉原基中央部で特異的な細胞増殖を促進することにより、中肋形成を制御していると結論した。

以上、本研究により、イネにおいては *YABBY* 遺伝子ファミリーに属する *DL* 遺伝子が心皮決定を制御しているという極めて独創性の高い発見を含め、イネの花の器官決定と分裂組織の維持機構に関する多くの新しい分子遺伝学的知見を得ることができた。また、単子葉植物に特有な中肋形成に関しても、分子レベルでの理解が深まった。本研究により得られたイネの花と葉の発生分化に関する知見は、単にイネのみならず高等植物の発生分化とその多様化に関する研究分野に多大な貢献をするものであり、学術上、応用上極めて高い価値をもつものである。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文に値するとの結論に至った。