

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山木 辰一郎

胚珠は高等植物の雌性配偶器官であり、発生して種子となる。従って、胚珠分化のメカニズムを解明することは作物における種子形成の基本的な理解につながる。しかし、イネを含む単子葉植物での胚珠分化についての知見は極めて少ない。本研究では、イネの胚珠分化に関わる遺伝子および変異体を同定し、胚珠分化の発生遺伝的解析を行ったものである。本論文の内容は、4つの章から構成されている。

1. 野生型イネにおける胚珠の分化様式

まず、野生型イネにおける胚珠の発生過程を詳細に解析した。イネの胚珠は頂部が花床側に倒れる半倒生型である。また内珠皮は珠心のほとんどを包むが、外珠皮は花柱側で内珠皮の 1/4 程度にしか伸長しない。

花器官分化期、心皮に続いて胚珠原基が分化し、珠皮原基は胚珠の基部から一重のリング状に分化し、やがて内珠皮と外珠皮に分裂するという他種ではあまり例のない分化様式をとっていた。その後、珠心内部で胚嚢分化が進むにつれて、胚珠の頂部が花床側へと倒れていき、半倒生胚珠を形成した。*in situ* ハイブリダイゼーションにより遺伝子発現をしらべたところ、花分裂組織において *OSHI* (未分化細胞のマーカー) の発現が抑制された直後に *OsMADS13* (胚珠のマーカー) の発現が始まっていた。また胚珠原基では *DL* (心皮のマーカー) が発現していなかった。従って、イネの胚珠は、心皮からではなく、花分裂組織から直接形成されたと考えられた。

2. イネにおける *AINTEGUMENTA* 相同遺伝子の解析

シロイヌナズナ *AINTEGUMENTA* (*ANT*) の配列をもとに、イネ幼穂 cDNA ライブラリーから *OsANT1*、*OsANT2*、*OsANT3* を単離した。3つの *OsANT* は *ANT* と同程度のアミノ酸相同性を示し、特徴的な AP2 domain 内でも相同性に大差はなかった。RT-PCR では、*OsANT1* は葉身、*OsANT2* は初期胚と根を除く広い範囲で発現していたが、*OsANT3* はどの組織でも発現していなかった。*in situ* ハイブリダイゼーションにより、*OsANT2* が葉原基と珠皮原基で強く発現し、それらの器官の良いマーカーになることが分かった。

3. 胚珠の原基分化を制御する *OVULELESS* 遺伝子の解析

イネカルス再分化集団から、胚珠が分化しない *ovuleless* (*ovl*) 変異体を得た。胚珠分化期、*ovl* では野生型と同様に胚珠原基に似た突起がみられたが、以後の生長はみられなかった。胚珠原基状突起で *OsMADS13* が発現していたことから、この突起は胚珠原基であり、*OVL* には胚珠原基をパターン形成へと移行させる機能があると考えられた。

また *ovl* では様々な程度で小穂器官が欠失していた。小穂分化期、*ovl* では分裂組織が野生型より早く消失し、器官分化が停止していた。従って、*OVL* には生殖生長期に分裂組織を維持する

機能があると考えられた。

4. 珠皮の分化を制御する *GYPSE EMBRYO* 遺伝子の解析

イネ MNU 変異原処理集団から種子中の胚の位置が頂部へとずれる *gypsy embryo(gym)* 変異体を得た。初期胚の位置もずれていたため、開花期の雌蕊を観察したところ、*gym* の胚珠はあまり屈曲せず、直生型に近くなっていた。それらの胚珠では卵細胞が花柱側へとずれており、*gym* での胚の位置異常は卵細胞の位置異常に起因することが分かった。またそれらの胚珠では内珠皮の花柱側が十分に伸長せず、その伸長程度が胚珠の屈曲程度とよく一致していたため、内珠皮の伸長が胚珠の屈曲を制御すると考えられた。これはシロイヌナズナで外珠皮の伸長が胚珠の屈曲を制御することと異なり、珠皮の機能の多様性を示している。

胚珠分化期、*gym* の花分裂組織、胚珠原基、珠皮原基の花柱側は野生型より大きくなっていた。それらの部位では *OSH1* が異所的に発現し、逆に *OsMADS13*、*OsANT2* の発現が弱まっていたことから、*gym* では花分裂組織の有限性が部分的に失われ、残存した未分化細胞が胚珠アイデンティティーの確立と正常な珠皮分化を妨げていると考えられた。また、花分裂組織が増大し花器官数が増加する *fon2-3* との二重変異体 *gym fon2-3* では花分裂組織の有限性が失われ、心皮が大幅に増加していた。よって *GYM* と *FON2* は冗長的に花分裂組織の有限性を制御すると考えられた。

以上、本研究は、イネの胚珠分化に関わる重要な遺伝子、変異体を同定するとともに、胚珠分化の制御機構を明らかにしたものであり、学術上、応用上価値が高い。よって、審査委員一同は、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。