

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小松 契史

枝分かれは、植物の地上部での形態を規定する大きな要因の一つであり、複雑な植物の形態をつくりあげるために不可欠な過程である。また、胚発生後に新たな分裂組織が形成されるメカニズムは長い間多くの研究者の興味の対象となってきたが、いまだに不明な点が多い。本論文では、枝分かれの最初の段階である腋芽分裂組織の形成に焦点を絞り、これらに関する基礎的な知見を得るために、以下の4つの研究を行った。

第1章では、イネの枝別れである「分けつ」の形成や「穂の分枝」に欠失が起きるイネ *lax panicle (lax)* 変異体の表現型を解析した。

正常なイネ（野生型）では1枚の葉の付け根に一つの腋芽分裂組織が形成され、それが分けつとして成長するが、本論文で解析した5種類の変異体 (*lax-1* から *lax-5*) では、いずれも分けつの形成率が低下していた。分けつが成長しなかった葉の付け根には腋芽分裂組織が形成されていなかった。野生型植物では、生殖成長相に転換後に形成される腋芽分裂組織は穂の分枝（枝梗および穎花）として成長する。*lax* 変異体の穂の異常は顕著であり、最も異常な *lax-2* や *lax-3* 変異体では、ほとんど分枝が見られない棒状の穂が形成された。これらの解析から、それぞれのアリル（遺伝子型）について、*lax-2*、*lax-3* が強い表現型、*lax-1* 変異体が中間型、*lax-4*、*lax-5* 変異体が弱い異常を示すことを示した。また、分けつと穂の異常の程度は関連していることが明らかになった。

次に、*lax* 変異体において、分裂組織や葉の形成に関わる遺伝子をマーカーとして用いた解析を行い、*lax* 変異体では野生型と同様に葉が分化する段階までは正常に進行するが、その後、その葉の腋に新たな分裂組織（腋芽分裂組織）が形成される段階に異常をきたしていることを示した。

第2章では *LAX* 遺伝子の単離と機能解析を行った。

*lax-2* 変異体（日本型）と野生型イネ（インド型）の交雑 F2 世代を材料に、染色体歩行法により *LAX* 遺伝子の座上位を決定した。その結果、第1染色体長腕部の約 82kbp の領域に *LAX* 遺伝子が座場していることを見出した。さらに詳細な解析を続け、この領域内に存在した5つの予想遺伝子の中から *LAX* を特定した。*LAX* 遺伝子は、bHLH と呼ばれる領域を持つ 215 アミノ酸からなるタンパク質をコードしていることから、その翻訳産物は転写因子として機能すると予測した。さらに *LAX* タンパク質が核内に局在することを明らかにし、*LAX* タンパク質が転写因子として機能するという推測を裏付けた。*LAX* 遺伝子は、全ゲノム配列が決定されたシロイヌナズナには存在しておらず、イ

ネ科植物に特有な遺伝子であるという可能性を提唱した。

*lax* 変異体の5つのアレルについて *LAX* 遺伝子内の変異部位を特定し、遺伝子上の変異の程度が第1章で明らかにした変異体の表現型の強弱と一致することを示した。

*in situ* ハイブリダイゼーション法により *LAX* mRNA の組織内の局在解析を行った。その結果、*LAX* mRNA は、栄養生長期において分げつ原基が形成される際にも、生殖生長期において枝梗や側生顕花が形成される際にも、主茎と腋芽分裂組織が形成される領域の境界部で層状に発現することを見出した。この結果は、イネにおけるすべての枝分かれが共通の分子機構によって制御されているというアイデアをさらに裏付けた。また、胚発生や根では *LAX* 遺伝子が働いていないことを示し、*LAX* 遺伝子は腋芽分裂組織の形成に特異的な遺伝子であることを示した。

第3章では、分子マーカーを用いてイネの栄養生長期における腋芽分裂組織形成過程を解析した。

この解析では *LAX* の発現開始に先立って、すでに腋芽分裂組織が形成される領域では分裂組織能が確立していることを観察した。このことから、腋芽分裂組織形成において、*LAX* は分裂組織能の誘導ではなくて、新しく確立した腋芽分裂組織の形成をより先に進める促進役を担っているという可能性が示された。

以上、本論文では、詳細な表現型の解析から、*LAX* 遺伝子がイネの全成長相を通じて腋芽分裂組織の形成を制御する遺伝子であることを示した。これは、*LAX* が新たな分裂組織の形成において中枢となる基本的過程に関わることを意味する。さらに、*LAX* 遺伝子の単離に成功し、単離した *LAX* 遺伝子の解析から、表現型の解析から得られた解釈を裏付けた。このように、本論文は、植物の形を決定する上で最重要項目の一つである分枝形成を理解する上で非常に重要な知見を提供した。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であると認めた。