

論文審査の結果の要旨

氏名 大森 良弘

本論文は5章からなる。第1章は、序論であり、本研究の学問的背景とその目的について述べられている。第2章から第4章までは、イネ科、特にイネの *DROOPING LEAF (DL)* 遺伝子の発現制御機構と葉の中肋形成に関する研究結果とその考察について述べられている。第5章では、得られたすべての結果を受けて、イネ *DL* 遺伝子の発現制御や機能に関し包括的考察を行うとともに、その遺伝子の活性と中肋形成との関連を考察し、応用面への展望について述べている。

イネ科の葉は、薄く細長い。そのため、葉の中央には中肋と呼ばれる強い構造体が形成され、薄い葉を直立させるように役立っている。この中肋の形成には、*DL* 遺伝子が重要な役割を果たしており、この遺伝子の完全な機能喪失変異体では、中肋が形成されないため、葉は直立できず、しな垂れる。また、*DL* 遺伝子は、花においても、心皮の発生に重要な働きをしている。本論文において、論文提出者は、分子遺伝学的研究に適したイネを主な研究材料とし、*DL* 遺伝子の発現制御機構と中肋形成に関する機能を明らかにする目的で研究を行った。

第2章は、ソルガム (*Sorghum bicolor*) の *DL* オーソログの解析とイネ科4種の植物の発現制御領域の解析について述べられている。ソルガムは、イネ科キビ亜科に属し、最近ゲノム解析が急速に進んでいる植物である。論文提出者は、ソルガムから、*DL* 遺伝子のオーソログを単離し、その空間的発現パターンを解析した。その結果、この遺伝子の発現パターンは、葉および花の発生過程で、イネの *DL* 遺伝子の発現パターンとよく類似していることが明らかになり、イネ科内で *DL* の発現制御機構が保存されていることが示された。そこで、イネ科内の4種の植物の *DL* オーソログの配列を比較し、非コード領域に存在する保存配列 (conserved non-coding sequence; CNS) を見いだした。CNSは、5'上流域に3つ、第1イントロンと第2イントロンに、それぞれ1つずつ存在していた。これらは、*DL* オーソログの発現制御に重要な働きをしていると考えている。

第3章では、イネ *DL* 遺伝子の空間的発現制御に関わるシス領域を、GUSレポーター遺伝子を用いて実験的に解析した結果について述べられている。まず、第2章で明らかにしたCNSを参考に、5'上流域や第1、第2イントロンの一部を様々に欠失したコンストラクトを作製し、これらをイネの細胞に導入し、形質転換植物を作製した。

形質転換体のGUSの染色パターンの解析から、*DL* 遺伝子の発現に必要ないくつかの制御領域を見いだした。中肋の予定領域における発現には、第2イントロンに存在するCNS内の 200 bp の配列が必須であること、第1イントロンには発現量を正に制御する因子が存在すること、5'上流域 (-7,390~-3,300) には維管束や厚壁機械組織における異所的発現を抑制する因子が存在することなどを、明らかにした。一方、中肋予定領域で発現を正確に再現する最も長い制御領域を用いても、心皮での発現は検出されなかった。心皮の発生時に必要な発現制御領域は、コード領域のはるか上流あるいは下流に位置すると考えられる。発現制御領域が2つのイントロンにまたがることは、これまで植物の遺伝子では報告されておらず、イネの *DL* 遺伝子の発現には、ユニークかつ複雑な発現制御機構が存在することが判明した。

さらに、*DL* の転写因子としての機能を増強した融合タンパク質を、中肋予定領域で正確に誘導する制御領域を用いて、発現させた。その結果、通常中肋が形成されない先端部まで中肋が形成されるようになり、全体の中肋も大きくなり、野生型と比べても、葉がより直立するようになった。葉の直立性は、重要な農業形質であることから、*DL* 遺伝子の機能改変は応用面にも利用できる可能性が示唆された。

第4章では、*DL* 遺伝子の発現と中肋形成との関連の解析について述べられている。表現型の異常が軽微な、新たな *dl* 変異体 (*dl-5*) を単離し、その解析を行った結果、トランスポゾン *Ping* が第4イントロンに挿入されていること、この挿入により *DL* mRNAのスプライシング効率が低下すること、を明らかにした。また、*dl-5* の細胞から誘導されるカルスでは、*Ping* が *DL* 遺伝子から切り出されることが示され、この *Ping* は転移活性を保ち続けていることが判明した。つづいて、*DL* 遺伝子が発生初期の葉原基において中央部分の細胞増殖を制御すること、*DL* 遺伝子の発現量が最終的に形成される中肋構造の大きさと強く関連していることを示した。

本論文第4章は、すでに、論文提出者が第一著者の論文として印刷公表されている。その論文は安彦真文、堀端章、平野博之氏との共同研究であるが、本論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。第3章は、論文提出者が第一著者として印刷公表予定であり、第2章は、他の解析結果とあわせ、論文提出者が共同第一著者である論文として印刷公表予定である。

本研究により得られた知見は、高等植物の遺伝子発現制御機構の解明に貢献するものであり、学術上、極めて高い価値をもつものと考えられる。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。