

論文審査の結果の要旨

氏名 岡本 暁

本論文は2章からなる。まずイントロダクションに、マメ科植物と根粒菌の共生が、土壌中の窒素や「根粒形成のオートレギュレーション」と呼ばれる全身的な制御系によって制御されていること、オートレギュレーションは根粒菌の感染により根で誘導されてシュートへ伝達される「根由来シグナル」と、シュートから根に伝達され根粒形成を抑制する「シュート由来シグナル」より構成されることなどが記されている。

マメ科のモデル植物ミヤコグサでは、近年根粒形成のオートレギュレーションに関わる因子としてHAR1が単離されている。HAR1はロイシンリッチリピートを持つ受容体型キナーゼ(RLK)をコードし、接木実験によりシュートで機能することが明らかにされている。また、HAR1はシロイヌナズナの全RLKの中でシュートメリステムの活性を負に制御するCLV1と、イネの全RLKの中では花メリステムの活性を負に制御するFON1と最も相同性が高いことがわかっている。一方、CLV1はCLE遺伝子の一種であるCLV3に由来するペプチドを認識することが明らかにされており、FON1もCLE遺伝子の一種であるFON2と遺伝的に同一経路で機能することが明らかにされている。これらの知見から、学位申請者である岡本はHAR1が根由来シグナルとしてCLEペプチド(LjCLE)を受容して根粒形成を抑制すると想定し、その候補となる遺伝子の探索を行った。

第1章ではシロイヌナズナとイネにおいてCLV1, FON1とCLV3, FON2の対応関係が保存されていることに着目し、ミヤコグサのゲノム情報より見出した39個のLjCLE遺伝子の中からCLV3, FON2と最も相同性の高い遺伝子LjCLV3を根由来シグナルの候補として解析している。器官別発現解析ではLjCLV3は主に茎頂で発現が検出され、根粒菌を接種しても発現量に変化は見られず、*in situ* hybridizationでは、LjCLV3は茎頂及び腋芽分裂組織で発現が検出された。また、LjCLV3過剰発現体および発現抑制体の作成を行った結果、LjCLV3を過剰発現させたカルスではシュートの再生が強く抑制された。一方、LjCLV3の発現抑制系統ではシュートの帯化や一つの花柄に形成される花の数の増加が見られたが、

形成される根粒数に変化はなかった。これら結果から、LjCLV3は根粒形成のオートレギュレーションには関わらず、ミヤコグサの茎頂分裂組織の維持に関わることが示唆された。

第2章では根粒形成のオートレギュレーションにおける根由来シグナルは根粒菌の接種により誘導されると考えられていることに着目し、そのシグナル分子の探索を行っている。根粒菌の接種に対するLjCLE遺伝子の発現応答を調べた結果、シュートでは大きく発現量の変化したLjCLEは無かったが、根では3つのLjCLEの発現量が根粒菌の接種により顕著に上昇した。そこで、このLjCLEに関して毛状根形質転換法を用いて根で過剰発現させたところ、LjCLE-RS1, -RS2は根粒形成をシステミックに抑制することを見出した。また、この抑制効果はHAR1依存性であった。従って、LjCLE-RS1, -RS2は根粒形成のオートレギュレーションにおける根由来シグナルの有力候補であると考えられた。さらに、HAR1は硝酸による根粒形成の抑制にも関わることから、硝酸に対するLjCLE-RS1, -RS2の発現応答を調べたところ、LjCLE-RS2は硝酸に対しても強く誘導されることがわかった。このことからLjCLE-RS2はHAR1を介して根粒形成のオートレギュレーションと硝酸による根粒形成の抑制の両方に関与することが示唆された。なお、これまでCLE遺伝子は細胞間近距離シグナル伝達を介して分裂組織の恒常性の維持に関わることが報告されてきたが、LjCLE-RS1, -RS2はシステミックに作用する点、根粒菌の接種や硝酸の添加という植物の外部環境の変化に応答する点で新しいタイプのCLE遺伝子と言える。

審査会において*in situ* hybridizationやレーザーマイクロダイセクションによるLjCLV3やLjCLE-RS1/2の発現解析について質問があり、留意点が指摘された。シグナル物質の遠距離移行やhar1の病原微生物に対する応答等に関する質問等があった。また英語での表現方法について指摘を受けた。審査員の評価は、全員合格であった。

第2章の成果は、日本植物生理学会の国際誌*Plant Cell Physiology* 誌に論文が掲載されている。またその論文は、大西恵梨香、高橋宏和、中園幹生、佐藤修正、田畑哲之との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。