

論文審査の結果の要旨

氏名 山口 暢俊

花茎における花の配列の規則性と花茎全体を指して花序という。申請者は、Ler の様に花序形態が散房花序様に変化した変異体 *corymbosa1* (*crm1*)の解析から始めて、シロイヌナズナ花序の形づくりの仕組みをオーキシン作用、LFY 遺伝子との相互作用と関連して研究した。

第一章では CRM1 遺伝子による花序形態の制御機構を明らかにする目的で、*crm1* 変異体を解析した。*crm1* 変異体では細胞伸長欠損によって、小花柄と節間の顕著な伸長欠損が起こる。マッピングとアレリズムテストの結果、*crm1* 変異の原因は正常なオーキシンの輸送だけでなく、様々なシグナル伝達に関与する BIG 遺伝子変異であることがわかった。プロモーターGUS 融合と *in situ* ハイブリッド法を用いた発現解析の結果、この CRM1/BIG 遺伝子は花序分裂組織、花芽分裂組織、および小花柄と節間の維管束で発現していることを明らかにした。さらに *crm1* 変異体では、小花柄と節間の維管束におけるオーキシン応答性プロモーターDR5 の発現が減少することを見いだした。そのため、*crm1* 変異体では小花柄と節間における必要なオーキシン濃度に達しないために、細胞伸長が起こらず花序形態変化に至ったと考えられる。

第二章ではオーキシンの蓄積と茎の発達の関係を明らかにする目的で、オーキシンとオーキシン輸送阻害剤処理をしたときの花序と、オーキシン関連変異体の花序の観察を行った。オーキシン処理をした場合、小花柄と節間での DR5 の発現が増加する。そのとき、花序では細胞伸長欠損による小花柄と節間の伸長欠損が起こることがわかった。一方、オーキシン輸送阻害剤処理をした場合、DR5 の発現は減少する。そのとき、花序では細胞伸長欠損による小花柄と節間の伸長欠損が起こることがわかった。そのため、適切な量のオーキシンの蓄積によって小花柄と節間の細胞伸長が促進されると考えられる。さらに、第一章で用いたオーキシン関連変異体である *crm1* 変異体では小花柄が下向きに、*axr1* 変異体では上向きに伸長することをそれぞれ見いだした。そのため、オーキシン関連遺伝子が制御するイベントが小花柄と節間の発達、特に伸長方向の決定において多様な役割を持っていることが示唆された。

第三章では *crm1* 変異体における花序形態変化の原因を明らかにする目的で、メタンシルホン酸エチルを変異原として散房花序様の形態を抑圧する変異体の単離を試みた。抑圧変異体 2A1 は *crm1* 変異体における花茎伸長停止が早くなる表現型を部分的に回復し、散房花序様形態が緩和された。シーケンスと既知の *leafy* (*lfy*)変異体を用いた遺伝学的解析によって、2A1 の原因遺伝子が花芽分裂組織決定遺伝子 LFY であることを明らかにした。*crm1-1 lfy-1/+*では花がより上向きに伸長した。遺伝子発現解析の結果、*crm1* 変異体では、LFY 遺伝子の発現量が発生後期にのみ増加していることがわかった。そこで、LFY 活性がカリフラワーモザイクウイルス (CaMV)35S プロモーターの制御下にある LFY-GR 融合タンパク質によって供給される形質転換植物 (35S::LFY-GR)を用いて、発生後期にデキサメタゾン (DEX)処

理によって LFY 活性を過剰に獲得させた。すると小花柄と果実がより下向きに伸長した。さらに詳細な組織学的解析によって、LFY を活性化した場合の伸長方向の変化は小花柄の向軸側と背軸側の偏差成長の欠損が起こることを明らかにした。この極性の変化と対応するように、導管の過剰な発達と、向軸側の性質と導管の発達を正に制御する REVOLUTA (REV) 遺伝子の小花柄と節間における異所的な発現が観察された。そのため、適切な時期と量の LFY 遺伝子の発現が、小花柄と節間の極性と維管束の発達の度合いに影響を与え、花・果実と小花柄の伸長方向を決定することが示唆された。次に、LFY から伸長方向の決定に至る分子カスケードの解明を目指し、LFY に転写活性化される直接標的遺伝子、APETALA1(AP1)に注目した。同様の誘導系を持つ ap1-1 35S::AP1-GR を発生後期に DEX 処理をすると、35S::LFY-GR (Ler)の花序を DEX 処理したときと同様に小花柄がより下向きに伸長した。さらに ap1-1 35S::LFY-GR (Ler)を DEX で処理をした場合も、小花柄が下向きに伸長し、散房花序様の表現型を示した。そのため、LFY を活性化した場合、AP1 遺伝子の機能に依存した経路と、AP1 遺伝子に依存しない経路の 2 つの経路を介して、伸長方向が決定されることが示唆された。

以上のように、シロイヌナズナの花序形成を種々の観点から解析し、オーキシン作用の実態、LFY 遺伝子の新たな機能の発見、などの重要な貢献を行った。

なお、本論文第 1 章は、鈴木光宏、深城英弘、森田美代、田坂昌生、米田好文、との共同研究として発表済みであるが、論文提出者が主体となって解析およ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。