

論文内容の要旨

申請者氏名 上 村 祥

シロイヌナズナの生殖器官である花メリステムの増殖停止と花器官の分化の両方を制御するのが、MADS ボックス転写因子をコードする *AGAMOUS* (*AG*) 遺伝子である。*AG* タンパク質以外にも、転写因子である *SUPERMAN* (*SUP*) タンパク質と *CLAVATA3* (*CLV3*) ペプチドに注目した。これら 2 つの突然変異体でも花メリステムの増殖の抑制ができず、花器官の数が増加することが報告されている。各遺伝子の多重変異体を作製して表現型の解析を行った結果、変異を導入するごとに花器官の数の増加により花のサイズが増加し、*ag sup clv3* 三重変異体で最も大きくなることがわかった。この形態の変化は、花メリステムのサイズの大きさと幹細胞の決定因子である *WUS* 遺伝子の発現の発現と相関があることがあった。これらの実験結果から、*AG*、*SUP* タンパク質及び *CLV3* ペプチドは独立した経路で花メリステムの増殖を抑制していることが示唆された。さらに、この多重変異体を用いた RNA シーケンスとすでに公表されている *AG* タンパク質の花メリステムにおける ChIP シーケンス解析のデータと比較することで、*AG* タンパク質は、*SUP* タンパク質や *CLV3* ペプチドとは独立の経路で機能し、花メリステムや花器官の形成を抑制することで、花メリステムにおける細胞増殖を抑制するという遺伝子ネットワークの全体像を明らかにした。

さらに、*AG* タンパク質による *DAD1* 遺伝子を介した *JA* による花の形態形成機構を明らかにするため、初めに *ag* 変異体と *dad1-3* 変異体の表現型の観察をおこなった。野生型と比べてこれら 2 つの突然変異体では、細胞サイズが大きくなることで、最終的な花卉のサイズが増加するという表現型の共通点を新規に見出した。また、*AG* 遺伝子と *DAD1* 遺伝子の変異により花卉の老化が遅延することも明らかになった。*JA* の添加により、*ag* 変異体と *dad1-3* 変異体の花卉のサイズが増加するという表現型は回復したことから、*ag* 変異体および *dad1-3* 変異体の花卉の表現型は *JA* の減少によることが示唆された。次に *AG* タンパク質と *DAD1* タンパク質の下流で働く経路を明らかにするため、野生型と *dad1-3* 変異体の花卉を用いて RNA シーケンスを行い、*JA* により発現が増加し、*JA* のシグナル伝達抑制因子 *JAZ* タンパク質に抑制される 70 個の遺伝子を以降の解析の対象にした。これら 70 個の遺伝子のうち、25 個の遺伝子は *JA* 応答遺伝子を誘導する *MYC2* 転写因子とその複合体の構成因子である *MEDIATOR25* タンパク質の共通の直接標的であった。これら 25 遺伝子の中には、糖の輸送を制御する *SUGAR TRANSPORT PROTEIN 13*、細胞死や老化を制御する *NAC102* や *RELATED TO ABI3/VP1 1* などの各遺伝子が含まれていた。これらの解析により、*AG* タンパク質は *DAD1* 遺伝子の転写活性化を介して *JA* のシグナル伝達を制御することにより、糖の輸送・細胞死のシグナル伝達を調整することで、花卉の老化を促進するという新しい遺伝子ネットワークの存在が示唆された。

☐ やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 上 村 祥

シロイヌナズナの花メリステムの増殖停止と花器官の分化の両方を制御するのが、MADS ボックス転写因子をコードする *AGAMOUS* (*AG*) 遺伝子である。本研究は、二部構成であり、第1章として、*AG* 遺伝子の花メリステム増殖抑制における位置づけとその作用機構について、*AG* タンパク質以外にも、転写因子である *SUPERMAN* (*SUP*) タンパク質と *CLAVATA3* (*CLV3*) ペプチドに注目して解析した。各遺伝子の多重変異体を作製して表現型の定量解析を行った結果、変異を導入することに花器官の数の増加により花のサイズが増加し、*ag sup clv3* 三重変異体で最も大きくなることがわかった。この形態の変化は、花メリステムのサイズの大きさと幹細胞の決定因子である *WUS* 遺伝子の発現の発現と相関があった。これらの実験結果から、*AG*、*SUP* タンパク質及び *CLV3* ペプチドは独立した経路で花メリステムの増殖を抑制していることが示唆された。さらに、この多重変異体を用いた RNA シーケンスを行い、既知のデータとの比較から *AG* タンパク質によって直接的に転写制御を受けて花メリステムで働く候補遺伝子を同定し、花芽形成のマスター制御因子として知られる *LEAFY* など、花メリステムの形成や花器官の形成を促す遺伝子が含まれていた。これらの解析から、*AG* タンパク質は、花メリステムや花器官の形成を抑制することで、花メリステムにおける細胞増殖を抑制するという新規遺伝子経路を明らかにした。

また、本研究の第2章では、*AG* 遺伝子による JA 生合成を介した花弁の老化遺伝子の誘導によるサイズ制御機構の解明を目指した。*AG* タンパク質は花発生後期まで雄しべと心皮で発現を続け、花糸ではジャスモン酸 (JA) の生合成に必須の酵素をコードする *DEFECTIVE IN ANTHER DEHISCENCE1* (*DAD1*) 遺伝子の発現を直接促進し、雄しべの成熟に機能するが、花弁サイズの影響は未知であった。初めに *ag* 変異体と *dad1-3* 変異体の表現型の定量解析をおこない、野生型と比べてこれら2つの突然変異体では、細胞サイズが大きくなることで、最終的な花弁のサイズが増加することを見出した。次に *AG* タンパク質と *DAD1* タンパク質の下流で働く経路を明らかにするため、野生型と *dad1-3* 変異体の花弁を用いて RNA シーケンスを行い、老化関連遺伝子や糖の輸送体など *dad1-3* 変異体の花弁において発現が減少する遺伝子群を同定した。これらの実験結果から、*AG* タンパク質は *DAD1* 遺伝子の転写活性化を介して JA のシグナル伝達を制御することにより、糖の輸送や細胞死のシグナル伝達を調整して花弁の老化を促進するという新しい遺伝子ネットワークの存在が示唆された。

以上のように、本論文は植物の生殖器官形成における新規遺伝子経路を解明したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。

☐ やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】