論文内容の要旨

申請者氏名　　廣田　敦子

双子葉植物の体の大部分は、地上部は茎頂に存在する茎頂分裂組織から、地下部は根端分裂組織から生じる。主茎と主根の先端を結ぶ主軸は、胚発生過程で生じた茎頂分裂組織と根端分裂組織から直接形成される。そして、発芽後に葉腋に新たな茎頂分裂組織（腋芽）が生じ、主根の内鞘細胞から側根の根端分裂組織（側根原基）が生じ、それらが活性化される事で枝・花・側根等の側成器官が形成される。そして、主軸と側成器官が環境に適応しつつ伸長する事で植物個体の最終形態が作られる。シロイヌナズナの劣性変異体 *puchi* は、ほぼ全ての花柄の基部に異常が見られ、側根の基部がこぶ状になる。そこで、申請者は地上部と地下部の側成器官形成の調節機構を明らかにする目的で、この変異株の原因遺伝子 *PUCHI* に関する次の３つの解析を行った。

１、*PUCHI* 遺伝子のクローニング

PUCHI 遺伝子をマップに基づいてクローニングし、変異が見られた遺伝子を含むゲノム断片を変異株に形質導入する事で遺伝子を同定した。この遺伝子はシングルコピー遺伝子であり、AP2/EREBP 転写因子ファミリーに属するタンパク質をコードする。実際に GFP との融合タンパク質は核に局在した。

２、*PUCHI* 遺伝子は花の発生過程で苞葉形成を抑制する

puchi-1 変異体の花の基部に一対の突起状構造物とそれを繋ぐ形で扁平な構造物が形成される。これらの構造物は非常に若い花原基で形成されていた。また、マーカーの発現解析や遺伝学的解析から、これらの構造物が苞葉状の構造物である事が示唆された。そして *PUCHI* 遺伝子は花分裂組織の発生初期で一過的に発現していた。これらの結果から、*PUCHI* 遺伝子は花形成の初期で苞葉形成を抑制することが示唆された。

３、*PUCHI* 遺伝子は側根数を調節する

発芽後 *puchi-1* 変異体の主根の伸長は野生株と同じである。しかし、側根の生育が悪く、側根基部にこぶが形成された。側根形成の初期過程を組織学的に調べ野生株と変異株を比較した所、変異株では側根原基における細胞分裂パターンが異常になり、原基周辺での異常な細胞分裂の亢進が起こっていた。そのため、変異株では発生が進むと原基の幅が広がり基部にこぶが生じると考えられる。野生株の側根原基発生過程での PUCHI タンパク質の発現を調べたところ、PUCHI は分裂を始めたばかりの内鞘細胞や発生初期の原基全体で認められ、発生が進んだ側根では基部にだけ発現していた。そして *PUCHI* 遺伝子の発現量はオーキシンシグナルで調節されることが示唆された。

以上の解析より、シロイヌナズナ *PUCHI* 遺伝子は、花と側根が形成される過程で働き、胚発生以降の体づくりで重要な機能を持つ新奇の転写因子であることが示された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名　　廣田　敦子

双子葉植物の成体は、胚発生過程で生じた芽生えの両端に有る茎頂分裂組織と根端分裂組織から新しい葉・茎・根が次々と作られること、さらに、発芽後に葉腋に茎頂分裂組織が生じ、主根に側根分裂組織が生じて、これらが活性化され枝や花，側根といった側成器官が伸長する事で形成される。発芽後に生じるこれら分裂組織の形成過程あるいは活性化過程の分子機構に関する研究はまだ端緒についたばかりである。申請者は、これらの過程に関与すると考えられるシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）の新奇の *PUCHI* 遺伝子に関する分子遺伝学的な研究を行い、側成器官形成に関する新しい知見を得た。

本論文の成果は大きく３つに分けられる。一つめは、*PUCHI*遺伝子のクローニングであり、この遺伝子がシロイヌナズナにおける単一遺伝子であり、新奇の転写因子である可能性が高いタンパク質をコードする事を示した。２つめは、*puchi* 変異株の地上部の表現型の組織学的・遺伝学的解析と *PUCHI* 遺伝子の発現解析から得られた知見であり、*PUCHI* 遺伝子は花分裂組織の発生初期で一過的に発現し、野生株のシロイヌナズナで花の基部の苞葉形成を抑制することが示唆された。３つめは、PUCHI の側根形成における機能解析から得られた知見である。申請者は、*puchi* 変異株の側根分裂組織形成過程の詳細な解析、PUCHI タンパク質の GFP 融合タンパク質を用いた発現解析、*PUCHI*遺伝子 5'上流域を用いた発現制御解析を行った。その結果、この遺伝子が側根分裂組織の初期（側根原基）から発現し、初期の原基内で細胞分裂パターンの制御、原基周辺部における細胞分裂の抑制に関わる事、この遺伝子の発現量が転写因子 ARF を介した植物ホルモンオーキシンの信号伝達で調節される事が明らかになった。

以上のように申請者は、植物の形態形成で最終形態に大きく関わる側成器官のうち花形成と側根形成の両方に関わる新奇の転写因子を同定し、その機能解析を行う事で、側成器官形成に関する多くの新しい知見を明らかにした。特にこれまでほとんど研究がなされていなかった側根原基の構築過程における細胞分裂の制御に関する研究は、非常にユニークであり今後の分子遺伝学的なアプローチの基盤を形成した。これは新しい研究分野を切り開いたと言える。また、シロイヌナズナの花で苞葉形成がおさえられていると言う可能性を示唆した事は、栄養成長期の葉と枝の形成と花形成の関連を解くきっかけを与えている。さらに、植物の種によって苞葉の有無に差がある事を進化の観点から解く可能性も示唆しており興味深い。これらの点から、この研究は学術上、応用研究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。