

論文内容の要旨

申請者氏名 高野 翔

高等植物は胚発生中に茎頂分裂組織を形成し、発芽後、茎頂分裂組織はまず栄養成長期に葉と脇芽を形成し、次に生殖生長期になると花器官を形成する。したがってこの分裂組織に含まれる細胞が一生を通じて未分化な状態を維持しつつ分裂を繰り返すこと、そして増殖した細胞の一部が器官原基となり各器官に分化していくことが植物の発生にとって重要である。しかし茎頂分裂組織の形成・維持機構、および茎頂分裂組織からの器官形成機構については未だ不明な点が多い。本研究室で単離されたシロイヌナズナの劣性変異体 *gorgon* (*gor*) は、生殖成長期に移行しても花が形成されないまま花茎の伸長と花茎先端部の著しい肥大化が進行した。その後、数多くの花や枝が一斉に茎頂部から形成される。そして、*gor* 変異体において *SHOOT MEISTEMLESS* (*STM*) 遺伝子内にミスセンス変異が生じていることが示された。*STM* は茎頂分裂組織で発現して分裂組織の形成と維持を促進する遺伝子で、class I knotted-like homeobox (KNOX) 型転写因子をコードする。*gor* 変異はホメオドメインの第 3 ヘルックス内に高度に保存されているアミノ酸の 1 つに置換を引き起こしていた。これまでに単離された *STM* の機能喪失変異体は、茎頂分裂組織の欠失や減少という *gor* とは全く異なる表現型を示す。このことから、*gor* 変異は既知の *stm* 変異とは異なる影響を茎頂分裂組織の発生に与えていると考えられる。そこで申請者は、*STM* の機能について新たな知見を得ることを目的として、*gor* 変異体の詳細な解析を行なった。まず、*gor* における茎頂分裂組織組織の肥大化は胚発生の終結以降に始まること、一方で、本葉原基の初期の発達は野生型植物体と比較すると遅延していることを明らかにした。このことは *gor* 変異体における茎頂分裂組織の肥大化は、茎頂分裂組織内の細胞分裂の活性化や茎頂分裂組織から器官原基への細胞の供給の遅延に起因する可能性を示唆する。*gor* 変異体に対し野生型 *STM* ゲノム断片を導入することで *gor* 変異体の表現型が回復した。また既知の *stm* 機能喪失変異体に *gor* 変異を含む *STM* ゲノム断片を導入すると *gor* 変異体と同じ表現型が現れた。この結果から、*gor* 変異体の表現型の原因は *STM* 遺伝子上のミスセンス変異に起因することを明らかにした。BELL1-Like (BELL) 型ホメオドメインタンパク質をコードする *PENNYWISE* (*PNY*) は *STM* とともに茎頂分裂組織の形成・維持に機能し、PNY タンパク質と *STM* タンパク質はヘテロダイマーを形成する。Yeast two-hybrid アッセイを行い、*gor* 変異型の *STM* も *PNY* と正常に相互作用することを示した。一方、*pny* 単独変異体では茎頂分裂組織は欠失しないが、*gor pny* 二重変異体は茎頂分裂組織が維持できず、既知の *stm* 機能喪失変異体に近い表現型を示した。このことから、*gor* 変異型 *STM* タンパク質が茎頂分裂組織の形成と維持に働くためには、*PNY* が必要であることを示唆した。これらの結果は *gor* が部分的な機能喪失型アレルであることを強く示唆している。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 高野 翔

高等植物の地上部のほとんどの器官は茎頂に存在する分裂組織(SAM)から発芽後に生じる。そして、SAMは自らを未分化な状態に維持しながら、新しい器官を形成する細胞を供給し続ける。主軸のSAMは胚発生過程に生じ、発芽後も栄養成長期にSAMとしての機能を維持しつつ、次々と本葉とその葉腋に腋生分裂組織を形成し、生殖成長期には花を作る。そのため、一生を通してSAMが一定のサイズに維持される事が重要であり、そのための調節メカニズムはこれまでも良く研究されている。その中でも、ホメオボックスを持ち、正の転写因子として機能するタンパク質をコードするSTM(SHOOTMERISTEMLESS)がこの調節過程で重要な働きをする事が知られている。そして、この遺伝子の機能を欠損した変異株 *stm* はこれまでに幾つか取られおり、それらは全てSAMが欠失または縮小し、そのために発生が途中で停止するという表現型を示した。このため、この遺伝子はSAMの維持に対して正に作用すると考えられて来た。今回、申請者が解析した *gorgon* 変異株は、STM遺伝子のホメオドメイン内に1アミノ酸の変異を起こす劣性変異であるにも関わらず、表現型がこれまでの劣性変異株と逆でSAMが拡大する事が明らかになった。*gor* 変異により生じるホメオドメイン内のアミノ酸置換(R339K)によって茎頂分裂組織の形成・維持に著しい異常が引き起こされることから、このアミノ酸はSTMタンパク質の機能にとって重要な意味を持つと考えられる。R339は他のタンパク質のホメオドメインに高度に保存されたアミノ酸であるR53に相当し、このアミノ酸はDNAへの結合に関与することが示されている。このことから、*gor* 変異型STMタンパク質ではDNA結合能になんらかの変化が生じ、下流遺伝子の発現に対して既知の*stm* 変異とは異なる影響を与えた可能性が考えられる。また、タンパク質相互作用を行う別のホメオドメイン結合タンパク質の存在下でのみ *gorgon* タンパク質の機能が発揮できる事も明らかになった。これらの解析から、今まではSTM遺伝子はSAMの活性を正に調節する因子と考えられていたが、同じタンパク質がSAMの維持に対して負に制御する可能性が明らかになった。今後はこれらの可能性を検証していくことで、STMの持つ新しい機能が解明されることが期待される。

以上のように、本論文は植物の茎頂分裂組織の維持に関する新しい調節機構の存在の可能性を示唆しており、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。