

審査の結果の要旨

氏名 三村 真生

植物にとって葉は生命活動に必須な光合成や蒸散などを行う地上部における最も重要な器官の一つであり、その分化様式は植物体地上部の体制に大きな影響を与える。従って、葉の分化様式の制御メカニズムを解明することは、作物の地上部の形態の改良を行う上で重要な知見を与えうる。葉の分化様式の一つとして葉間期がある。葉間期は葉の分化速度の指標であり、イネにおいてはこれまでに葉間期を制御する3つの遺伝子 *PLASTOCHRON1 (PLA1)*、*PLA2*、*PLA3* が同定されている。しかし、これらの遺伝子が実際にどのような制御過程によって葉間期に関わっているのかは未解明である。また、*PLA1*、*PLA2*、*PLA3* 遺伝子以外の葉間期を制御する遺伝子が報告されているが、これらの遺伝子間の相互作用や葉間期を制御する分子メカニズムについてはほとんど明らかになっていない。本論文は3章から構成され、イネの *PLA1*、*PLA2* 遺伝子を中心とした葉間期の遺伝的制御ネットワークを解明することを目的とした研究である。

第1章では *PLA1*、*PLA2* 遺伝子とジベレリンとの相互作用について解析を行なっている。ジベレリンは茎や葉の伸長を促進する植物ホルモンであるが、*pla1*、*pla2* 変異体ではジベレリン処理による葉の伸長が抑えられた。さらに、野生型の幼苗にジベレリン処理をすることによって *PLA1* と *PLA2* の発現量が上昇した。また、葉が過伸長してしまうジベレリン恒常的応答性変異体の *slender rice 1 (slr1)* では *PLA1* と *PLA2* の発現が上昇し、逆に矮性の表現型を示すジベレリン低感受性変異体 *Slr1-d1* では *PLA1* と *PLA2* の発現が低下した。これらの結果はジベレリンの情報伝達経路の下流で *PLA1*、*PLA2* 遺伝子の発現が制御されていることを示唆している。また *pla1/slr1*、*pla2/slr1* の二重変異体では *slr1* の葉が伸長する表現型が部分的に抑えられた。これらの解析によって、ジベレリンによる葉の伸長には *PLA1*、*PLA2* 遺伝子が部分的に必要であり、ジベレリンの情報伝達の下流で *PLA1*、*PLA2* 遺伝子が機能していることを明らかにした。

第2章では *PLA1*、*PLA2* 遺伝子の過剰発現体の解析を行なっている。遺伝子コピー数を増やした *PLA1* と *PLA2* の過剰発現体 *PLA1 High-Copy (PLA1HC)* と *PLA2HC* を作成し、その表現型を調べた。栄養生長期では *PLA1HC*、*PLA2HC* とともに野生型と比較して葉のサイズが大きくなると同時に、葉間期が長くなり、葉の枚数は少なくなった。生殖成長期においては穂の一次枝梗数と籾数が野生型と比べて少なくなったが、稈長、穂長、種子サイ

ズ、粒重は野生型と比較して大きくなっていました。このことから、*PLA1*, *PLA2* 遺伝子の発現量の制御により葉や種子などの器官のサイズと数の調節ができる可能性が示唆された。

第3章では葉間期制御に関わる遺伝子の遺伝的相互作用の解析を行なっている。イネでは *PLA1*, *PLA2* 遺伝子の他にも葉間期に関与する遺伝子が複数同定されている。転写因子をコードする *OsSPL14* 遺伝子の過剰発現体は葉間期が延長する表現型を示し、*OsSPL14* を抑制する *miR156* の過剰発現体では逆に葉間期が短縮する。さらに、*aberrant panicle organization1 (apo1)*, *apo2* 変異体では *pla* 変異体と同様に葉間期が短縮する。そこで *PLA1*, *PLA2* 遺伝子と *SPL/miR156*, *APO1*, *APO2* 遺伝子間における遺伝的相互作用を解析した。まず、*OsSPL14* と *miR156* の発現量を *pla* 変異体で調査したところ、*pla1*, *pla2* 単独の変異体では *OsSPL14* の発現量が減少し、*pla1/pla2* 二重変異体ではそれぞれ単独の変異体よりもさらに相加的に減少していた。一方で、*miR156* の発現量は、*pla2* 変異体と *pla1/pla2* の二重変異体において同程度に増加しており、*pla1* 変異体では有意差は認められなかった。これらの結果から、*PLA1* は *miR156* とは独立に、*PLA2* は *miR156* を介して *OsSPL14* の発現制御に関わっていることが推測された。また、*pla1*, *pla2* 変異体と *OsSPL14* 遺伝子の過剰発現体の二重変異体の解析からは、*OsSPL14* の過剰発現により *pla* 変異体の表現型を部分的に抑えられることを明らかにした。以上の結果から、イネにおいて *OsSPL14/miR156* が *PLA1* と *PLA2* の下流で部分的に葉間期制御に関わっていることが示された。*PLA1*, *PLA2* 遺伝子と *APO1*, *APO2* 遺伝子の遺伝的相互作用の解析からは、*pla1/apo1*, *pla2/apo1*, *pla1/apo2*, *pla2/apo2* の4種類の二重変異体がいずれも単独の変異体より葉の長さが短く、葉の枚数は多くなる相加的な表現型を示し、*APO1*, *APO2* 遺伝子は *PLA1*, *PLA2* 遺伝子とは独立の経路で葉間期を制御していることを明らかにした。

以上、本研究によりイネにおける葉間期制御の遺伝的ネットワークの一端が明らかにされた。まず、イネの *PLA1*, *PLA2* 遺伝子はジベレリンによって発現が誘導され、そして下流の *OsSPL* 遺伝子の発現をそれぞれ異なる経路で制御することによって葉間期を調節している。さらに、*PLA1*, *PLA2* 遺伝子とは独立の *APO1*, *APO2* 遺伝子による葉間期制御の経路が存在することも明らかにした。過剰発現体の解析からは、*PLA1*, *PLA2* 遺伝子は器官サイズや数の決定に関与しており、その発現量を制御することによって、葉や種子のサイズ、数といった植物の形態形質を改変できる可能性を示唆している。これらの研究成果は、学術上応用上寄与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（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。