

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 本田 恵倫子

多くの高等植物において、葉は頂部・基部軸、向軸・背軸、中央・側方軸の3の軸に極性化した構造を持ち、発生過程ではそれぞれの軸に沿って異なる組織分化が起こる。これらの軸に沿った葉の形態形成に関する発生遺伝学的な制御機構は、多くの重要な作物を含むイネ科において、未だそのほとんどが明らかになっていない。本研究では、葉の形態に異常が見られる二種類のイネ変異体を用いて、イネの葉の軸方向の形態形成における発生遺伝学的機構の理解を深めることを目的として行った研究である。本論文は4章から構成され、第1章では序論として葉の発生に関するこれまでの知見と本研究の位置付けについて述べている。

第2章ではイネ *leaf lateral symmetry1* (以下 *lsy1*) 変異体の葉の詳細な表現型解析と、その原因遺伝子の機能について論じている。*lsy1* 変異体は左右非対称な葉を分化するが、*lsy1* 変異体の発生過程の異常を詳細に調査したところ、*lsy1*では若い葉原基の左右差に大きなばらつきが生じていた。これらの結果から、*lsy1*変異体は葉の発生の初期段階から側方方向の伸長に不規則な異常を示すことが明らかになった。*LSY1* 遺伝子は *WUSCHEL-LIKE-HOMEOBOX3*(以下 *WOX3*)転写因子をコードする。*WOX3*遺伝子ファミリーは側生器官の形態形成に重要な機能を持つことが知られており、これまでイネにおいても葉縁の形態形成に関わる *NALLOW LEAF2/3* (以下 *NAL2/3*) が知られていた。そこで *WOX3*遺伝子ファミリーの系統解析を行ったところ、双子葉植物には一種類の *WOX3*遺伝子しか存在しないのに対し、単子葉植物には二つの *WOX3*サブクレードが存在し、*LSY1*は *NAL2/3*とは異なるサブクレードに属することが明らかになった。そこで、*lsy1*変異体と *nal2/3*変異体の葉の表現型を比較したところ、*nal2/3*変異体は *lsy1*変異体の葉とは異なり、葉縁部分を左右対称に欠くことがわかった。このことから *WOX3*はイネにおいて機能分化しており、*LSY1*は *NAL2/3*とは異なる機能を持つことが示唆された。

第3章ではイネ *WOX3* 遺伝子の葉の形態形成への作用機序を明らかにした。まず *LSY1*の過剰発現体の表現型を観察したところ、葉縁の成長が側方方向に促進され、先端が向軸側に巻き込まれていた。葉の向軸側領域と背軸側領域のマーカー遺伝子の発現を過剰発現体の葉原基で調査したところ、それぞれのマーカー遺伝子の発現領域が葉原基の内部にまで拡大していた。また背軸マーカー遺伝子の発現量は野生型と比較して増加していた。こ

これらの結果から、*LSY1* は葉の発生初期において向背軸境界に影響を与えるとともに、葉の背軸側領域の決定を正に制御することで葉縁形成に関わっていることが推測された。続いて、*NAL2/3* 遺伝子と *LSY1* との関係を調査した。*lsy1* 変異体における *NAL2/3* 遺伝子、*nal2/3* 変異体における *LSY1* 遺伝子の発現をそれぞれ調査したところ、それぞれの発現パターンに変化は見られなかった。しかし、発現量は *nal2/3* 変異体で *LSY1* 遺伝子の発現が増加し、*LSY1* 過剰発現体においては *NAL2/3* 遺伝子の発現量が増加した。続いて *lsy1 nal2/3* 三重変異体の表現型を観察したところ、三重変異体の植物体は *lsy1*、*nal2/3* と比較してさらに矮性でねじれた葉を生じたが、葉原基の異常は *lsy1* と *nal2/3* の相加的な表現型であると考えられた。これらの結果から、*LSY1* と *NAL2/3* 遺伝子は互いの発現量に影響を及ぼすが、独立して葉の側方方向の形態形成に関わることが示唆された。

第4章では *NEEDLE1* (以下 *NDL1*) 遺伝子の機能解析を行っている。*NDL1* は転写因子をコードし、その劣性変異体 *ndl1-1* は、発育段階初期において葉身部を欠失するという葉の長軸方向の形態形成に関する異常が見られる。まず、*ndl1-1* の葉の表現型と軸方向の形態形成との関わりを明らかにするために、葉の基部領域、向軸側領域、葉身・葉鞘境界領域のマーカー遺伝子の発現を観察した。その結果、向軸側領域マーカーの発現は *ndl1-1* の葉原基で弱くなっており、葉身・葉鞘境界領域のマーカー遺伝子の発現は第2葉において全く観察されなかった。このことから、*NDL1* は葉身葉鞘境界を含む頂部の分化に機能していること、長軸方向の形態形成に加えて、葉の向背軸方向の細胞増殖にも関与することが示唆された。次にオーキシン局在のレポーター遺伝子である *DR5::GUS* の発現を *ndl1-1* の葉原基において調査した。その結果、葉の先端での *DR5::GUS* の発現は野生型と比較して弱く、特に葉身のない葉では、わずかにしか発現が見られなかった。更に、オーキシン濃度が低下している変異体との二重突然変異体を作成したところ、胚発生致死となることが推定された。これらのことから、*NDL1* 遺伝子はオーキシン濃度を葉の先端で調節することによって、葉の長軸方向の形態形成に関与していると考えられた。

以上、本研究からイネの葉原基における軸方向の形態形成に関わる発生遺伝学的機構の一端が明らかとなった。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。