

論文審査の結果の要旨

氏名 殷 晓沅

本論文は5章からなる。第1章は序章、第5章は総合考察と結論である。研究内容は大きく3つに分けられ、第2章～第4章に記述されている。

第1章ではまず、被子植物の多様な葉の中でもとくに論議の的となっている単面葉について、向軸・背軸の極性に係わる特徴が説明され、これまでにどのような解釈がなされてきたかが、成長点の転換により成長の軸が切り替わることで単面葉が形成されるとする「仮軸説」や、向軸分裂組織の活動が単面葉を形づくると考える「向軸分裂組織説」などの諸説を挙げて、整理されている。次に葉の発生に関わる分子生物学的知見が、向背軸の極性の決定機構を中心に概説されている。続いて *Juncus prismatocarpus* を用いた単面葉発生の分子生物学的研究が紹介され、その要点として、単面葉は葉身部全体が背軸側の性質を有すること、単面葉の形態形成には YABBY 転写因子遺伝子の *DROOPING LEAF (DL)* や WOX 転写因子遺伝子の *PRESSED FLOWER (PRS)* による細胞増殖・成長の制御が重要であることが述べられている。最後に分子生物学的研究と過去に提案された様々な仮説との対応が論じられ、単面葉に関する議論を決するには細胞分裂と成長方向の詳細な解析が必要である、との認識が示されている。そしてこれを踏まえ、細胞分裂と成長方向を効率よく解析する方法を開発し、この方法を単面葉に適用して細胞分裂・成長を調べ、遺伝子発現パターンと比較するという、研究の目的が述べられている。また、葉身が部分的に二面性をもつ準単面葉について、KNOX1 転写因子との関係を検討することが、もう一つの研究目的として掲げられている。

第2章では、細胞分裂の活性と成長の方向を効率的に調べるための方法の開発が述べられている。この方法はチミジン類似体のエチニルデオキシウリジン (EdU) を利用したパルスチェイス法で、EdU を植物体に短時間投与し、S 期細胞の DNA に取り込ませた後、EdU を除去して細胞分裂を進行させ、EdU で標識された核の割合から細胞分裂活性を捉えると同時に、対をなす標識核の対の向きから成長の方向を捉える、というものである。実験では、まずシロイヌナズナの葉原基を対象に条件検討が行われ、次に最適化した条件で得られたデータが定量的に解析されている。この結果、新開発のパルスチェイス法が細胞分裂と成長方向の空間分布の解析に有効であることが

示された。

第3章では、上記のパルスチェイス法の適用による、*J. prismatocarpus* の単面葉発生過程における細胞分裂と成長方向の解析が述べられている。解析の結果、葉の厚みを増す方向の成長が発生初期に起きていること、この成長に寄与する細胞分裂と伸長に寄与する細胞分裂はどの領域にもあり、空間的に分離できないことなどが明らかになった。これにより、向軸分裂組織説には修正が必要であることが示された。また、成長点の転換に相当するような細胞分裂域の変化が認められなかったことから、仮軸説は否定された。遺伝子発現については、*DL*、*PRSa*、*PR Sb* の発現と細胞分裂のパターンが比較され、*DL* 発現細胞が非発現細胞の細胞分裂にまで影響を及ぼしている可能性や、*PRSa* の方が *PR Sb* よりも細胞分裂に対し強い効果をもつ可能性が論じられている。

第4章では、*J. torreyi* の準単面葉についての解析が述べられている。KNOX1 転写因子の発現はふつう葉原基では抑えられているが、*J. torreyi* では KNOX1 ファミリー遺伝子の *KNOTTED1* (*KNI*) ホモログが葉原基の葉身部で強く発現していることが示された。この結果と、KNOX1 転写因子が葉原基で異所的に発現する突然変異体に見られる基部・先端部軸の乱れなどから、真の単面葉では葉鞘に限られる向軸面が、準単面葉では *KNI* の発現により葉身の一部に拡大していることが考察されている。

第5章では、以上の研究が総括され、総合的な考察と結論が述べられている。

研究全体を通して得られた結果は多大であり、自ら開発した新しい手法の有効性を示すとともに、単面葉および準単面葉の発生に関し、重要な新情報を提供している。本論文は、これらの研究成果を正確な図表と明快な英文で記述している。実験結果の考察では、過去に発表された仮説や先行研究と関連づけて丁寧な検討がなされ、合理的な結論が導かれている。また、当該分野の文献は、過不足なく適切に引用されている。

なお、本論文に記載された研究は、指導教員で審査委員の塚谷裕一（東京大学大学院理学系研究科教授）との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および論証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。