

## 論文内容の要旨

申請者氏名 Md. Rezaul Karim

高等植物の地上部器官は、茎の先端部に存在する茎頂メリステムから形成される。茎頂メリステムは盛んに分裂を繰り返し、側方部から新しい器官原基や側方メリステムを繰り返し作り続ける。植物は環境からの刺激と内的な発生プログラムの進行に基づいて、茎頂メリステムから作り出す側方器官および側方メリステムの場所・タイミング・アイデンティティを調節しており、このパターンの違いが植物の形態に多様性を生み出している。申請者は側方メリステム形成を調節する分子メカニズムを明らかにする目的で、シロイヌナズナの AP2/EREBP 型転写因子 PUCHI の機能解析を行った。野生型のシロイヌナズナでは、生殖成長期の初期に側枝を数本形成し、その後花を継続して形成する。側枝の基部には葉が形成されるが、花の基部では葉の形成が抑制される。一方、*puchi* 変異体では花の基部に小さな葉状の器官を形成することが前任者により明らかにされていた。そこで申請者は *puchi* 変異体の表現型をさらに詳しく調べ、生殖成長期の初期に形成される側枝の数が多くなることを明らかにした。この表現型は短日条件下で特に顕著であり、同条件下で生育した野生型よりも側枝の数が顕著に増加すると共に、花形成期に移行した後も時々異所的な側枝の形成が観察された。また、*PUCHI* 遺伝子の mRNA は花を生じる側方メリステム（花メリステム）の向軸側に発現していた。以上のことから *PUCHI* 遺伝子は花メリステムのアイデンティティとそれに伴う葉形成の抑制に必要であり、*PUCHI* の機能が欠損すると花メリステムが部分的、あるいは完全に側枝へと転換してしまい、且つ異所的な葉が形成されることが強く示唆された。また、*PUCHI* プロモーターの制御下で GFP-*PUCHI* 融合タンパク質を発現する植物の解析から、花原基の向軸側における *PUCHI* タンパク質の活性が、花原基の背軸側における葉形成の抑制に十分であることを示した。次に申請者は、NPR1 様核タンパク質をコードする *BLADE-ON-PETIOLE1* (*BOP1*) および *BOP2* 遺伝子の二重変異体が *puchi* と同様の表現型を示す点に着目し、*puchi* *bop1* *bop2* 三重変異体を作製した。その結果、三重変異体では各親株に比べて著しく花の形成が抑制され、代わりに多数の枝が形成された。さらに、花メリステム・アイデンティティの主要な決定因子である *LFY* および *AP1* の発現が、三重変異体の茎頂において著しく減少していた。以上から *PUCHI*、*BOP1*、*BOP2* が花メリステムアイデンティティの決定に関与する重要な因子であり、*LFY* および *AP1* の発現に必須であることが示された。*PUCHI* および *BOP* 遺伝子の発現はいずれも側方メリステムに特異的に起こることから、これらの遺伝子が *LFY* や *AP1* の部位特異的発現に重要な役割を持つことが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Md. Rezaul Karim

高等植物の発生・成長は体の先端部に新たな構造を積み重ねていくことで進んでいく。地上部では節・葉・腋芽・節間からなるひと組の構造単位（ファイトマー）が、茎頂にある分裂組織（メリステム）の働きにより次々と積み上げられる。発生が進むに従い、各ファイトマーを特徴づける性質である葉や腋芽の種類と大きさ、節間部の長さなどが、内的な発生プログラムと環境からの刺激により変化していく。各ファイトマーの特徴がどのように決定され、またそれに影響をおよぼす内的プログラムと環境シグナルがどのようにメリステムへ伝達され統合されるのかが、植物の発生を理解するためのもっとも重要な問題の1つである。申請者は本博士論文の研究において、シロイヌナズナの AP2/EREBP 型転写因子 PUCHI の解析を行い、PUCHI が NPR 型核内因子である BOP1・BOP2 と共に側枝のファイトマーから花芽のファイトマーへの転換を促進すること、初期の花芽原基における一過的な PUCHI タンパク質の蓄積が花芽のアイデンティティー決定と苞葉の抑制に十分であること、そして PUCHI と BOP1・BOP2 が花芽アイデンティティーの決定因子である *LFY* と *AP1* の発現に必須であることを示した。これらの結果は以下の三点において重要である。一つ目は、花芽ファイトマーのアイデンティティー決定に関与する新たな主要因子を発見した点である。今後、PUCHI と BOP1・BOP2 との相互関係を明らかにすることで、花芽の運命決定における新しい分子メカニズムの解明に結びつくことが期待される。二つ目に重要な点は、GFP-PUCHI 融合タンパク質の解析により、初期花芽原基の向軸側における PUCHI タンパク質の蓄積が胚軸側における苞葉形成の抑制に十分なことを示した点である。このことは、PUCHI が何らかのシグナルを介して葉の形成に関与する可能性を示しており、この作用機構を詳しく調べることで、苞葉形成を制御するシグナル伝達機構の解明への発展が期待できる。三つ目として、*PUCHI* と *BOP1・BOP2* が花芽アイデンティティーの中心的制御因子 *LFY* と *AP1* の上流で機能することを示した点が挙げられる。これまで、主に花成制御の研究から *LFY・AP1* の発現を促進する因子が数多く同定されているが、花芽特異的な *LFY・AP1* の発現がどうしてもたらされるかについてはよくわかっていなかった。*PUCHI・BOP1・BOP2* は花芽特異的に発現することから、*LFY・AP1* の部位特異的な発現制御に重要な役割を持つことが示唆され、今後 *PUCHI* や *BOP* の発現制御機構を調べていくことで、花芽形成における位置情報の形成という重要な問題へのアプローチが可能になる。以上から、本論文は植物の発生における最重要な問題に対して新たな知見と視野をもたらすものであり、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。