

論文内容の要旨

申請者氏名 池山 芳史

陸上性の高等植物は、地下に形成する根系によって地上部を支持するとともに生育に必要な水分や栄養分の吸収を行っている。一般に根系は胚発生時に形成される幼根が発達してできる主根と、主根の内部組織から形成される側根、地上部シュートから形成される不定根などから構成される。なかでも側根は根系の大部分を占める器官なので、発達した根系の構築において側根の形成過程を知る事は非常に重要な研究である。これまでに、側根形成に先立って植物ホルモンオーキシンに対する局所的な応答が観察され、それが側根形成中も継続することが知られている。そして、オーキシンが側根形成に正の因子として働くことが明らかにされていた。しかしながら、側根形成についてオーキシンスIGNALの下流あるいはこれと独立に関与する因子についてはよくわかっていない。そこで本研究では、シロイヌナズナの側根数が増加する *puchi* 変異体と減少する *rlf* 変異体を解析する事で側根形成開始時における新規の調節機構の解明を行った。*puchi* 変異体はオーキシン応答性の AP2/EREBP 転写因子ファミリーに属する転写因子をコードする遺伝子の劣性変異により、側根原基における異常な細胞分裂を起こすことが既に報告されている。本研究により *puchi* では 1 個体あたりの側根数が増加することが明らかになった。詳しく観察したところ、野生型植物の中で *PUCHI* は側根原基が形成される直前から内鞘細胞層においてスポット状に発現するがそれらの中で細胞分裂を行って側根を形成したのは約 40%であった。一方、*puchi* ではほぼ野生株と同じ数のシグナルスポットが形成されるが側根を形成する割合が上昇していた。これらの結果から、これまで側根形成開始に必要十分と考えられていた局所的なオーキシン応答領域のうち、その約半分からしか側根は形成されない事、*PUCHI* はこの選別過程で抑制的に働く事を示唆した。一方、劣性の *rlf* 変異体は野生型と比べて側根原基形成頻度が約半分に低下していた。この変異の原因遺伝子は *At5g09680* であり、Cytochrome b5-like heme/steroid binding domain を持つ機能未知のタンパク質をコードしていた。側根形成の初期においてそれまで分裂を停止していた一部の内鞘細胞が分裂を再開する事が重要である。そして、分裂を再開する前に G2/M 期に特異的に発現する CyclinB1 がこれらの細胞で特異的に発現する事が知られている。CyclinB1 を発現する細胞スポット数を *rlf* と野生株で比較した所、生じたスポット数に差はないが、野生型では約 85% のスポットが分裂を開始し、側根に分化するが *rlf* では約 50% しか側根を形成しなかった。この事は *RLF* が側根形成開始のための細胞分裂を正に制御する事を示唆している。なお、*RLF* の発現はオーキシンの影響を受けない事も明らかにした。これらの研究結果は、シロイヌナズナの側根形成過程の初期過程で、側根原基が形成されるまでに少なくとも 2 つの重要な調節段階が有る事を示唆している。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 池山 芳史

植物の体づくりを理解する上で、発芽後に形成される側成器官の形成過程を理解する事は非常に重要である。地下部では主として側根が形成されるがこの過程で植物ホルモンのオーキシンが正の制御因子として機能する事は比較的良く知られている。しかし、その他の制御メカニズムの詳細はほとんど解っていない。モデル植物であるシロイヌナズナでは、主根の中心柱を囲む内鞘細胞の中で原生木部に接した3列の細胞列の一部の細胞でオーキシン濃度が上昇し、その領域で細胞が不等分裂を開始する事で側根原基が形成される。既に我々はこの領域で、オーキシン応答性の正の転写因子 *ARF7,19* がその直接の下流因子である正の転写因子 *LBD29.16* の発現を正に制御する事が重要であることを明らかにしていた。今回、申請者はこの過程で機能すると考えられる2つの遺伝子 *PUCHI* と *RFL* の解析を新たに行った。その結果、*PUCHI* の高発現は内鞘細胞列中のオーキシン濃度が上昇した細胞でオーキシンの濃度上昇に伴って起きる事を明らかにした。ところが驚いた事に、野生型においてこの遺伝子を高発現したスポットの約半分しか側根に成らない事も明らかにした。そして、*puchi* 変異株では発現スポット数は野生型と同じであるが、側根に成るスポット数は統計的に有意に増加していた。この事は、*PUCHI* がオーキシン濃度上昇スポットの活性を低下させ、その領域で細胞分裂が起こらない様に抑制する働きをする事を示唆している。さらに、野生型では側根形成に進んだスポットのすぐ近傍にはオーキシン濃度上昇スポットが形成されないが *puchi* では生じる事から、*PUCHI* はこの領域におけるオーキシンの局所的な濃度上昇に対して抑制的に働く事も明らかにした。これは、これまでのオーキシンが側根形成を正に制御するという調節に加えて、負にも制御する可能性を始めて示唆する結果であり、側根形成の初期過程における全く新規の調節機構の可能性を示した重要な研究である。一方、*RFL* は、G2/M 期に特異的に発現する *CyclinB1* を発現した内鞘細胞が不等分裂を行って側根原基を形成する過程を正に制御する事を明らかにした。さらに、この制御にはオーキシンが関与しない事も示した。これらの研究により、内鞘細胞列の一部にオーキシンの高濃度蓄積が生じた後、その領域から側根が形成されるまでの初期過程に幾つかのステップが存在し、各ステップで正と負の制御を受ける事を実験的に示した。

以上のように、本論文は植物の側根形成の初期過程に置ける調節機構を始めて明確に示した研究であり、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。