

氏名(本籍)	あさひな まさし 朝比奈 雅 志 (静岡県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 3564 号		
学位授与年月日	平成 16 年 11 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on the Mechanisms of Tissue-reunion in the Cut Tissues of Plant (植物の切断組織における癒合機構に関する研究)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	佐 藤 忍
副 査	筑波大学教授	農学博士	酒 井 慎 吾
副 査	筑波大学教授	理学博士	及 川 武 久
副 査	筑波大学助教授	理学博士	坂 本 和 一

論 文 の 内 容 の 要 旨

高等植物では、通常、一旦分離した細胞同士が動物細胞のように再び接着することはないが、雌しべ形成時の心皮の結合や、傷害・接ぎ木などによる組織癒合時などには、例外的に観察することができる。このような後生的な細胞接着は、植物の形態形成にきわめて重要な現象であるにもかかわらず、そのメカニズムの解明はほとんど行われていないのが現状である。本研究は、切断胚軸の組織癒合過程について生理学的・分子生物学的解析を行い、切断傷害部における組織癒合機構の解明を試みたものである。

筆者はまず、キュウリ胚軸をかみそりを用いて水平方向に半分程度切断し、切断された皮層の組織癒合過程について解析を行った。光学顕微鏡を用いた観察から、切断後3日目になると、切断面付近の細胞が細胞分裂を開始し、切断後7日目には切断面上下の細胞が互に入り組み、切断された胚軸はほぼ完全に癒合した。ルテニウムレッドを用いた透過型電子顕微鏡による組織化学的解析から、組織癒合の際には、癒合部の細胞において細胞接着に重要な細胞壁酸性多糖のペクチンの活発な合成が起こることを明らかにした。

次に、子葉を切除した場合、皮層の組織癒合における細胞分裂が強く阻害されることを示した。この阻害は、細胞の伸長作用を持つ植物ホルモンであるジベレリンを処理することによって回復した。また、ジベレリン生合成阻害剤のユニコナゾールを子葉に散布したところ、皮層の細胞分裂は強く阻害され、ジベレリンを同時に投与することによりこの阻害は消失した。また野生型トマトではキュウリ同様の現象がみられたが、トマトのジベレリン生合成欠損変異体 (*gib-1*) では、切断された皮層の組織癒合における細胞分裂が起きないことが分かった。この阻害は、活性型ジベレリンを投与することで回復した。これらの結果から、胚軸の組織癒合過程の細胞分裂に葉で生産されるジベレリンが必要であることを示した。

次に筆者は、ジベレリンの生合成・輸送機構の解明を目的として、内生ジベレリン量の測定およびジベレリン生合成酵素遺伝子の発現解析を行った。播種後7日目のキュウリ芽生えから子葉を切除し、胚軸における内生ジベレリン量を、子葉を保持したままの植物体と比較したところ、活性型ジベレリンである GA_4 およびその前駆体が子葉を切除した場合に減少することが示された。また RT-PCR を用いてトマト芽生えにおいて主に発現しているジベレリン生合成遺伝子 *Le20ox1*, *Le3ox2* の器官別発現を調べたところ、本葉未展

開の植物体ではいずれの遺伝子の mRNA 量も子葉でもっとも高く、胚軸における発現は植物の生長にかかわらず常に低かった。これらの結果から、キュウリ、トマトの芽生えでは、子葉においてジベレリンが合成され、胚軸に輸送されているという、新たな可能性を示した。

さらに、筆者は、組織癒合の分子メカニズムの解明を目的として、同様の癒合過程が見られたシロイヌナズナの切断花茎を用いて、マイクロアレイ法による遺伝子発現の網羅的解析を行い、シロイヌナズナ全遺伝子中から癒合過程に発現の変化する遺伝子を同定した。データベースを用いて、これら遺伝子を機能別にグループ化し、細胞分裂、細胞壁に関わる遺伝子に注目して解析を行ったところ、細胞分裂に関連する遺伝子は、主に切断3日目の花茎で発現上昇が認められた。細胞壁に関わる遺伝子は、いずれの切断花茎でも発現が認められたが、細胞伸長・細胞壁多糖分解に関与すると予想される遺伝子は、主に切断3日目、5日目に認められた。また花茎切断後に発現が誘導された遺伝子のうちのいくつかは、種子発芽時のジベレリン誘導性遺伝子と一致した。

以上により、本研究では、切断組織の癒合機構に対して生理学的、分子生物学的な新たなアプローチからの解析を行うことにより、組織癒合時における植物体の形態的な変化から、ジベレリンの新規生理作用・輸送機構、遺伝子発現の変動などを幅広く明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

植物組織の癒合は、植物の環境応答や形態形成現象にきわめて重要であるにもかかわらず、その研究の多くが形態学的解析にとどまり、生理・分子メカニズムの解析はほとんど行われていないのが現状であった。本研究は、組織癒合に対して生理学的、分子生物学的な新たなアプローチからの解析を行い、組織癒合時における植物体の形態的な変化から、組織癒合に関連する遺伝子発現の変化を網羅的に解析することで、植物における後生的細胞接着について、個体レベルから遺伝子レベルまで広く解析を行った点が高く評価される。また本研究では、ジベレリンが切断された皮層の組織癒合における細胞分裂に必須であること、子葉がその活性型ジベレリンの合成に深く関与していることを明らかにした。これは、ジベレリンの生理作用として初めての報告である。さらに、ジベレリンの生産部位、作用部位が明確に区別できることから、これまで知見が不足していたジベレリンの中間産物の移動機構の解明にも結びつく研究として、その価値は極めて高い。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。