

氏名(本籍)	くろ は たけし 黒 羽 剛 (茨城県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第3724号
学位授与年月日	平成17年3月25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 Adventitious and Lateral Root Formation in Plant (植物の不定根・側根形成制御機構に関する研究)
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	筑波大学助教授 農学博士 中村 顕
副査	筑波大学助教授 農学博士 江面 浩

論文の内容の要旨

高等植物の根系は、胚発生時に形成される主根、主根から枝分かれして形成される側根、胚軸や茎から形成される不定根によって構成されている。このうち側根や不定根は、根系の大部分を占め、様々な環境条件に対応して形態を変化させており、過去の研究から、それらの形成には地上部から輸送されたオーキシシンや、エチレン等の傷害関連物質の促進的な関与が報告されている。一方、根(根端)がより基部側における根の形成を抑制する物質を生産することにより、新たな根の形成を抑制的に制御している可能性も示唆されており、これは、地上部における頂芽優勢に対応するものと考えられるので、「根端優勢」と呼ぶことができる。しかし、その抑制因子の正体や、オーキシシン、エチレン以外の因子の関与については詳細な報告がほとんどないのが現状であった。本研究は、生化学的・分子遺伝学的解析を通して、植物の不定根・側根形成制御機構の解明を試みたものである。

まず筆者は、カボチャの根から採取した導管液(根導管液)中にキュウリ不定根の形成を抑制する活性があることに注目し、不定根形成抑制物質の精製を試みた。その結果、不定根形成抑制物質としてサイトカイニンの一種であるトランス-ゼアチンリボシド(*t*-ZR)を同定することに成功した。また、*t*-ZRはカボチャ根導管液中に 2×10^{-8} Mの濃度で存在し、キュウリ胚軸から生じる不定根の形成を 10^{-8} Mから 10^{-4} Mの濃度で抑制した。以上の結果から、植物体内において*t*-ZRが根で合成され、導管を介して上側へ輸送されることにより、胚軸から生じる不定根の形成を抑制的に制御していることが示唆された。導管液中に存在するサイトカイニンは、地上部における頂芽優勢や葉の老化抑制など、様々な生理現象に関わっていると考えられるが、本研究で不定根形成の抑制という新たな機能の存在が示された。

一方、分子遺伝学的解析法が確立しているシロイヌナズナを用いて、根端優勢が弱い突然変異体の単離と解析を行った。野生型では通常の生育条件でほとんど形成の見られない不定根の形成が、無傷の植物体でもよく起こる(根端優勢が弱い)突然変異体を2系統(*ar-C22*, *rot302*)選抜し、これらの系統に関して詳細な解析を試みた。

ar-C22 は主根および胚軸の維管束細胞が少なく、側根を形成しないが、正常に維管束が発達し分岐する不定根の形成がみられた。*ar-C22* の胚軸維管束にはオーキシンの蓄積がみられ、主根にオーキシン処理をすることにより側根が形成された。遺伝子のマッピングと相補試験の結果、*ar-C22* はサイトカイニン受容体 *AHK4* (*AHK4/CRE1/WOL*) のミスセンス突然変異体であることがわかった。また、*AHK4* と他のサイトカイニン受容体として知られている *AHK2*, *AHK3* は、胚軸の維管束において遺伝子発現がみられた。さらに、三重突然変異体 *ahk2ahk3ahk4* では *ar-C22* と同様の根の形態を示した。以上の結果から、*ar-C22* および三重突然変異体 *ahk2ahk3ahk4* では、胚軸において *AHK2* ~ *4* 全ての機能が低下したことにより維管束形成が阻害され、オーキシンの輸送が抑制されて胚軸に蓄積されたことにより、側根形成の抑制、不定根形成の誘導が起きたと考えられた。また、*ar-C22* では、胚軸において、導管を介して上側へ輸送された *t-ZR* (またはその代謝物) の *AHK4* による受容機能が低下し、不定根形成抑制が効かなくなった結果として不定根が形成された可能性も考えられた。

一方 *rot302* は、不定根の形成が早い段階でみられる他に、根の伸長が遅く、根の分枝が野生型よりも早い段階でみられ、これらの表現型は温度感受性を示した。また、根を蛍光顕微鏡で観察すると、リグニンの異常な蓄積が主に内皮でみられた。遺伝子のマッピングと相補試験の結果、*rot302* は小胞輸送に関与する *AtREP 1* (*Arabidopsis thaliana Rab Escort Protein 1*) のミスセンス突然変異体であることがわかった。

以上の結果から、*rot302* では、*AtREP 1* の機能欠損により小胞輸送に異常が生じ、分泌等が異常になったことによって傷害応答反応がおこり、主に内皮細胞にリグニン蓄積等の異常が生じ、不定根や側根の形成が起きたことが考えられた。

以上により、本研究では高等植物の不定根・側根形成について、生化学的手法による抑制的制御因子の解析、分子生物学・分子遺伝学的手法による新たな突然変異体の解析を行うことにより、不定根・側根形成制御機構における新たな関連因子を発見した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

植物の不定根・側根形成制御機構は、植物の根系形成の根幹と言うべきものであるにもかかわらず、その研究のほとんどがオーキシンの促進的な関与によって説明されてきている。本研究は、促進的な因子に限らず抑制的な因子にも着目するとともに、生化学的、分子生物学的、分子遺伝学的な新たな多面的アプローチからの解析を行い、不定根・側根形成制御機構にかかわる低分子物質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、導管を介して根から輸送されたサイトカイニン (*t-ZR*) が不定根形成に対し抑制的に機能していることを初めて明らかにした。更にサイトカイニン受容体の機能を欠損するとオーキシンの極性輸送が抑制され、胚軸からの不定根形成が誘導されること、小胞輸送の異常が不定根、側根の形成を誘導することを初めて明らかにした。これらの研究結果は、不定根・側根形成制御機構の更なる解明に結びつく研究として、その価値は非常に高い。

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。