



Title	Characterization of a novel symbiotic mutant in the model legume, <i>Lotus japonicus</i>
Author(s)	Myra, L. Tansengco
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/45801
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	マイラ タンセンコ Myra L. Tansengco
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 18989 号
学位授与年月日	平成 16 年 8 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	Characterization of a novel symbiotic mutant in the model legume, <i>Lotus japonicus</i> (マメ科モデル植物ミヤコグサにおける新規共生変異体の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 室岡 義勝 (副査) 教授 原島 俊 教授 福井 希一 教授 塩谷 捨明 教授 小林 昭雄 教授 金谷 茂則 教授 仁平 卓也

論文内容の要旨

本研究はマメ科植物と根粒菌の共生に関わる遺伝子の解析を目的としたものであり、モデル植物であるミヤコグサ (*Lotus japonicus*) 由来の変異体を用いて一つの遺伝子の機能が解明された。本論文は緒論 (第 1 章)、本文 (2、3、4 章)、総括 (5 章) より構成されている。

緒論ではマメ科植物と根粒菌の共生の仕組みや、現在までに同定されている根粒形成変異体について触れるとともに、マメ科のモデル植物としてミヤコグサを用いて研究を行うことの意義を述べた。

第 2 章では共生変異体である *crinkle* (*crk*) について表現形の解析を行った。この変異体の根粒は小さく、白く、非感染の根粒様の形態をとることがわかり、さらに *crk* 変異体では感染糸の表皮細胞から皮膚細胞への侵入が阻止されていることが発見された。また *crk* 変異体では根毛の膨れ、トライコームの収縮、さやの矮小化が見られ、根粒以外の器官でも野生型と異なる表現形を持つことがわかった。

第 3 章では *crk* 変異体における受精率の低下の原因を解明した。*crk* 変異体のさやに含まれる種子の数は少なく、これは雄性配偶体の発育及び機能の不全に起因することがわかった。*crk* 変異体では *in vitro* の状態で花粉の発芽と花粉管の成長が抑制されることがわかった。さらにアクチン細胞骨格の変形に伴う花粉管の膨張が見られ、花粉管の極伸長の阻害が示唆された。また花粉管伸長の際、タペータム細胞の液胞化や小胞子の伸長に影響が見られた。これらのことから *Crk* 遺伝子は根粒の形成のみではなく生殖の過程でも重要な役割を果たすことがわかった。

第 4 章では *Crk* のポジショナルクローニングに必須となる *Crk* の遺伝子座のマッピングを行った。利用可能な PCR マーカーと F₂ 個体を用いることで、*Crk* の遺伝子座はミヤコグサの第 5 連鎖群上にマッピングされた。TAC/BAC ゲノムクローンや AFLP (amplified fragment length polymorphism) により新しいマーカーを作成し、それらを用いることで *Crk* 遺伝子は TM1336 と TM1495 マーカーの間の約 0.9 cM (~450 kb) に存在することがわかった。

総括では本研究で得られた知見をまとめ、そこから示唆されたことや *Crk* 遺伝子を同定することの意義について述べた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、生物の共生機構を解明することを目的として、共生関係が良く知られているマメ科植物と根粒菌の共生に関わる窒素固定根粒遺伝子の解析を行ったものである。モデルマメ科植物であるミヤコグサ (*Lotus japonicus*) 由来の共生状態を中断する変異体を用いてその遺伝子の機能を解明し、遺伝子地図上の位置づけを行っている。これら成果の要約は以下の通りである。

(1)共生変異体である *crinkle* (*crk*) について表現形の解析結果を述べている。この変異体の根粒は小さく、白く、非感染の根粒様の形態をとること、さらに *crk* 変異体は感染糸の表皮細胞から皮膚細胞への侵入が阻止されていることを発見している。また *crk* 変異体では根毛の膨れ、トライコームの収縮、さやの矮小化が見られ、根粒以外の器官でも野生型と異なる表現形を持つことを明らかにしている。

(2)*crk* 変異体における受精率の低下の原因の解明について述べた。*crk* 変異体のさやに含まれる種子の数は少なく、これは雄性配偶体の発育及び機能の不全に起因することを突き止めた。*crk* 変異体では *in vitro* の状態で花粉の発芽と花粉管の成長が抑制されることを明らかにしている。さらにアクチン細胞骨格の変形に伴う花粉管の膨張が見られ、花粉管の極伸長の阻害が示唆された。また花粉管伸長の際、タペータム細胞の液胞化や小胞子の伸長に影響が見られた。これらのことから *Crk* 遺伝子は根粒の形成のみではなく生殖の過程でも重要な役割を果たすことを明らかにしている。

(3)*Crk* のポジショナルクローニングに必須となる *Crk* の遺伝子座のマッピングについて述べている。利用可能な PCR マーカーと F₂ 個体を用いることで、*Crk* の遺伝子座はミヤコグサの第5連鎖群上にマッピングしている。TAC/BAC ゲノムクローンや AFLP (amplified fragment length polymorphism) により新しいマーカーを作成し、それらを用いることで *Crk* 遺伝子は TM1336 と TM1495 マーカーの間の約 0.9 cM (~450 kb) に存在することを突き止めている。

Crk 遺伝子を固定することの意義や共生機構の解明が非マメ科植物に窒素固定能を付与する可能性などについて述べている。

以上のように、本論文は窒素固定共生に関与する重要な遺伝子の機能を解明し、この遺伝子が植物の雄性配偶体の発育及び機能の不全に起因することなど、いくつかの重要な新しい知見を得ている。これは生物資源工学および共生情報工学の発展に少なからず寄与するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。