

氏 名	宇 佐 見 健 ^{たけし}
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 3051 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	シロイヌナズナにおける光受容体間相互作用の生理学的解析および構造 ／機能解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 長 谷 あ き ら	教 授 西 村 い く こ	助 教 授 荒 木 崇
--------	------------------------	---------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

植物はフィトクロム、クリプトクロム、フォトトロピンなどの光受容体を用いて様々な光応答を示す。光受容体間の相互作用は、植物が多様な光環境により柔軟に適応する上で重要である。光受容体間の相互作用に関しては、古くから生理学的な解析が数多く行われ、その結果、多様な光受容体間相互作用が存在することが示されてきた。しかし、その分子メカニズムについては、近年シロイヌナズナを用いた遺伝学的、生化学的な解析が行われているものの、不明な点が多い。

第一章において、これまでほとんど解析が行われてこなかった根の緑化についてシロイヌナズナを用いて詳細に調べたところ、青色光は赤色光に比べはるかに強い根の緑化を引き起こすことが分かった。連続赤色光下における根の緑化は phyB によって制御されていることが示された。一方、連続青色光下における根の緑化には、cry1 に加え、phyA もしくは phyB のどちらか一方のフィトクロムが必要であることが示された。つまり、青色光下における根の強い緑化はフィトクロムとクリプトクロムの相乗的相互作用によって制御されていることが示唆された。根における光合成関連遺伝子の発現も同様の制御を受けていることが分かった。さらに、二波長同時照射実験により、この相乗的相互作用は、少なくとも phyB に関しては P_{FR} 型に依存していることが示された。また、COP1 や DET1, HY5 といった光シグナル因子がフィトクロムとクリプトクロム両者の下流でこの応答に関わっていることが示唆された。

phyB はシグナル伝達に関わる N 末端ドメインと、二量体化と核移行に関わる C 末端ドメインに分かれる。第二章では、phyB について、どのドメインが根の緑化の制御におけるクリプトクロムとの相乗的相互作用に関わっているのかをドメイン解析を用いて調べた。その結果、N 末端ドメインは全長 phyB と同様にクリプトクロムと相乗的に相互作用することが示され、C 末端ドメインはこの相互作用には必要ないことが示された。また、この相互作用には光受容体間の物理的相互作用が必要であることを示す結果は得られなかった。

一方、野生株背景に phyB の C 末端ドメインを過剰発現させた植物では、根の緑化とともに、地上部の応答についても、青色光応答の増強が見られ、内在の cry1 および cry2 のシグナルが増強されていることが示唆された。また、この植物では内在の phyA シグナルが阻害されていること、phyB のシグナルは影響を受けていないことが確認された。phyB の C 末端ドメインと cry1 および cry2 との物理的相互作用は検出されず、phyB の C 末端ドメインの過剰発現体におけるこれらのタンパク質量も特に変化していなかった。このことから、phyB の C 末端ドメインはクリプトクロムシグナルの下流に影響を与えていることが示唆された。phyA に関しては弱いながらも phyB の C 末端ドメインとの物理的相互作用が検出されたことから、phyB の C 末端ドメインは phyA シグナルの下流に対して影響を与えている可能性に加え、phyA の活性を直接制御している可能性が示唆された。このように、phyB の C 末端ドメインが他の光受容体のシグナル伝達に影響を及ぼすことは、このドメインが phyB と他の光受容体との相互作用において何らかの役割を持っている可能性を示唆しており、phyB の機能、および光受容体間相互作用の分子メカニズムを解明する上で新たな知見である。

論文審査の結果の要旨

申請者は、植物の光応答における、異なる光受容体間の相互作用について研究を行った。固着生活をおくる植物は、動物以上に環境の変化に敏感であり、その発生・分化・成長の過程は、光環境の影響を大きく受ける。このため植物は複数の種類の光受容体を利用して、常に光環境をモニターしている。植物の光受容体には、フィトクロム、クリプトクロム、フォトトロピンの3種が知られる。これらの光受容体は、その構造もまったく異なり、基本的にはそれぞれが独立して働いている。しかしながら、植物の光受容体の間に相互作用が存在し、一度、別の光受容体で受容されたシグナルが統合されるような現象も知られている。申請者は、シロイヌナズナというモデル植物を材料にして、この問題について丹念に調べた。

申請論文の第1章において申請者は、根の緑化の光制御に注目し、まずは、青色光の方が赤色光よりはるかに強い根の緑化を引き起こすことを示した。これを示すにあたっては、クロロフィルの定量に加えて、電子顕微鏡による観察も行った。次に、フィトクロムの分子種である phyA, phyB, クリプトクロムの分子種である cry1, cry2 に注目し、これらの光受容体を欠損する変異体でこの応答を調べた。その結果、赤色光による弱い緑化は phyB により引き起こされることが証明された。さらに、青色光による強い緑化において、青色光の受容体である cry1, cry2 に加えて、phyA または phyB が必要であることを示した。このことは、この応答を制御するにあたって、クリプトクロムとフィトクロムの間に非常に強い相互作用が存在することを示している。これまで、このように強い相互作用が示された例はなく、これは大きな発見である。申請者はさらに、遺伝子発現の光制御についても調べ、この場合にもクリプトクロムとフィトクロムの間に強い相互作用が存在することを示した。加えて、この応答に、COP1 や HY5 といった核タンパク質に関わることも変異体を用いて示した。

第二章において申請者は、上記の相互作用の分子基盤を明らかにするため、改変フィトクロム遺伝子を発現する遺伝子導入植物の解析を進めた。フィトクロム分子は、大きく、発色団を結合し光を受容する N-末端側ドメインと、フィトクロムの2量体化や核移行に関与する C-末端側ドメインに分かれる。興味深いことに、この C-末端側ドメインが試験管内または酵母菌体内という人工的な条件下ではクリプトクロムと結合する、という報告もある。そこで申請者は、N-末端側ドメイン単独、または C-末端側ドメイン単独で発現する遺伝子導入植物の根における緑化を調べた。その結果、青色光下における強い緑化は、内在性の phyB を N-末端側ドメインで置き換えた場合でも正常に起こることが示され、この応答に C-末端側ドメインが必要ないことが示された。この結果は、ある意味、予想外であったが、それだけに興味深く重要な結果である。さらに、phyB と cry1 の物理的な相互作用について免疫化学的手法で調べたが、結合は確認されず、過去の報告に疑問がもたれた。

さらに申請者は、上記の解析の過程で新たに見いだした「C-末端側ドメインを発現する植物では青色光への応答性が高まる」という現象について解析を行った。そして、各種光受容体を用いた緻密な実験から、この C-末端側ドメインの効果は、クリプトクロムのシグナル伝達をターゲットとするものであることを証明した。

以上により、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。また、論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。