

氏名	えん どう もとむ 遠 藤 求
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 3170 号
学位授与の日付	平 成 19 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	光受容体による花成制御機構

論文調査委員 (主 査)
教授 長谷あきら 教授 西村いくこ 教授 岡田清孝

論 文 内 容 の 要 旨

固着生活を営み光合成に基盤をおく植物にとって、光は貴重な「資源」であるばかりでなく、「情報源」でもある。栄養生長から生殖生長への転換、すなわち花成という現象は光によって調節されており、農業への応用の見地からも研究が盛んに行われている。光による花成制御には光質（赤色光／遠赤色光比）と日長が重要な役割を果たしている。モデル植物であるシロイヌナズナでは、日陰に入り不適当な光環境になると、フィトクロム B (phyB) によって光質の変化が受容され花芽形成が促進される。また、季節変化にともなう日長変化はクリプトクロム 2 (cry2) に受容され、適切な時期での花芽形成を制御している。これまでの生理学実験から光質、日長を受容する部位はおもに葉であることが知られていた。葉は葉肉、維管束、表皮の 3 つの主要な組織からなるが、phyB と cry2 は共にこれらの組織全てで発現している。そのため、光刺激が葉のどの組織で受容されているかについては全く不明であった。これに対して、光受容体を特定の器官や組織で発現させることができれば、こうした問題を解決することができると期待された。この考えに基づき phyB と cry2 について以下の研究を行った。

本論文ではエンハンサートラップ法を応用し、phyB-Green fluorescenceprotein (GFP) 融合タンパク質を特定の器官／組織で発現するような形質転換植物を作出した。こうした系統をもちいた解析から、葉肉の phyB は花成を抑制するが、表皮や維管束の phyB は花成を抑制しないことをあきらかにした。次に重要な花成促進因子のひとつである FLOWERING LOCUS T (FT) 遺伝子の発現を調べたところ、葉肉細胞の phyB は維管束における FT 遺伝子の発現を抑制することがあきらかになった。FT 遺伝子は葉の維管束でのみ発現しており phyB が機能する葉肉細胞とは空間的に異なっていた。このことは phyB による花成制御メカニズムにおいて葉肉細胞から維管束細胞への組織間シグナル伝達経路が存在することを示している。

花成制御において cry2 機能の大部分は phyB 機能に依存していることが示されている。そこで phyB と密接な関係にある cry2 の研究を行った。phyB の場合より精度よく特定の組織における cry2-GFP の役割を調べるために、器官／組織特異的な発現を示すプロモーターによって cry2-GFP を発現させた形質転換植物を作出した。葉肉、維管束、表皮、茎頂、根特異的に cry2-GFP を発現させた系統の解析から、維管束で発現させた cry2-GFP は cry2 変異体の遅咲き表現型を完全に相補するが、それ以外の器官／組織などで発現させた cry2-GFP は花成にまったく影響しないことをあきらかにした。また、phyB の場合と同様に cry2 は維管束の FT 遺伝子の発現を制御することで花成を制御していることを示した。これらのことから、これまで示されていた phyB と cry2 の遺伝学的相互作用は空間的に同一な部位になくても十分であることが示された。

T-DNA が挿入した tdu-1 変異体は顕著な遅咲き表現型を示した。また、変異体では野生型と比較して CO 発現は変化していないにもかかわらず、FT 発現が低下していたことから、tdu-1 変異体の原因遺伝子は CO タンパク質の安定性を制御することを通じて、あるいは CO とは独立に FT 遺伝子の転写に影響を与えることにより、FT の発現量を調節している可

能性が想定された。遺伝学的・生理学的解析の結果、TDUはcry2の直下で働いている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究で申請者は、植物の花芽形成における光受容体の作用機構を調べた。論文は大きく3章に分かれ、第1、2章ではそれぞれ、フィトクロムB (phyB) とクリプトクロム2 (cry2) という光受容体について、それらが植物体内のどの組織で働くかを明らかにした。また、第3章では、光受容体による花芽形成制御に関わる新奇因子の変異体について解析した。詳しい内容を以下に述べる。

phyBは花芽形成を抑制することが知られている。第1章において申請者は、所属する研究室で作出されたphyBとGFPの融合タンパク質 (phyB-GFP) を組織特異的に発現する系統群 (PBT系統) を用いて、phyBがどの組織で働くのか調べた。まず、PBT系統のうち、葉肉、維管束、根、表皮などで特異的にphyB-GFPを発現する系統を選別し、花芽形成に関する表現型を調べたところ、葉肉のphyB-GFPのみが花芽形成を抑制する効果を示し、他の部位で発現させたphyB-GFPではそのような効果は見られなかった。次に、phyBの下流で花芽形成を制御しているFT遺伝子について、その発現を調べた。FT遺伝子は、花芽形成を正に制御する因子で、その発現はphyBの働きによって抑制されることが知られている。また、野生型植物においては、FT遺伝子の発現は維管束に限られる。これらを前提に、葉肉と維管束を分離してFT遺伝子の発現を上記系統で調べた。その結果、葉肉のphyB-GFPは維管束におけるFT遺伝子の発現を制御していること、維管束のphyB-GFPはそのような効果を示さないことがわかった。すなわち、phyBは維管束で光を受容し、その情報が何らかの組織間シグナル伝達機構により維管束に伝えられていることが示された。これは、予想とは異なる非常に興味深くかつ重要な結果である。

Cry2はphyBとは逆に花芽形成を促進する。第2章において申請者は、cry2-GFPを組織特異的に発現する系統を新たに作出した。この実験においては、組織特異的なプロモーターを用いた。得られた系統でPBT系統に対するのと同様の解析を行った結果、phyBの場合とは対照的にcry2-GFPは維管束で発現させた場合にのみ花芽形成を促進することが分かった。さらに、この実験では発現量と表現型の関係について定量的な解析を行い、これが人為的な過剰発現による現象ではないことを確認した。次に、これらの系統で葉肉と維管束を分けてFT遺伝子の発現を調べたところ、予想通り、維管束におけるcry2-GFPが維管束のFT発現を促進したのに対して、葉肉でcry2-GFPを発現した系統では葉肉においても維管束においても促進は見られなかった。したがって、phyBとcry2は、FT遺伝子という共通のターゲットを制御しているが、それらが機能する組織は異なることが分かった。これらもまた、予想とは異なる非常に興味深くかつ重要な結果である。

第3章において申請者は、花芽形成が遅延する新奇の変異体の解析を行った。表現型を詳しく解析した結果、この変異体においては特にcry2の作用が影響を受けていることが分かった。このような変異体は他には知られておらず興味深い。また、分子遺伝学的方法で変異の原因遺伝子をほぼ同定し、それが新奇のタンパク質であることを示した。

本論文は理学的に重要な内容を多数、含んでおり、研究の進め方も適切であると判断された。よって、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。