

氏名	たま だ よう すけ 玉 田 洋 介
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 33 号
学位授与の日付	平成 17 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	生命科学 研究科 統合生命科学 専攻
学位論文題目	植物における遺伝子発現の制御機構：トウモロコシ白化葉における C4 光合成遺伝子の発現制御および様々な植物器官の発達過程において一過的に発現する基本転写因子 atTAF10 の機能解析
論文調査委員	(主 査) 教授 泉 井 桂 教授 佐 藤 文 彦 教授 河 内 孝 之

### 論 文 内 容 の 要 旨

植物は自ら移動することができないため、様々な環境要因に対して優れた適応能を示し、柔軟に発生プログラムを使い分けることが知られている。近年、これら植物独自の諸過程に、主としてクロマチン構造の変換を介したダイナミックな遺伝子発現プロファイルの変化が寄与していることが明らかになりつつありその解明が課題となっている。本研究は、この課題に関連して、多数の遺伝子発現が統括的に制御される現象とその分子機構について研究を行ったものである。

葉緑体は重要な環境要因である光によってプロプラスチドやエチオプラストから分化する。細胞核ゲノム上の多数の光合成遺伝子は、健全な葉緑体が存在するときに初めて統括的に発現される。この現象は“核と葉緑体のクロストーク”としてよく知られている。第一編において著者は、この制御機構が C4 光合成遺伝子においても作動しているかどうかを検討した。植物体を除草剤ノルフルazon (NF) で処理すると、葉緑体の内部構造が破壊されて葉は白化し、クロストーク制御を受ける多数の遺伝子の発現が低下することが知られている。著者は C4 植物であるトウモロコシを NF で処理し、白化した葉を用いて光合成遺伝子群の発現を調査した。その結果、クロロフィル a/b 結合タンパク質やリブローズビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼの小サブユニットなどの C3 光合成由来の遺伝子の発現は mRNA の蓄積段階で強く抑制されたのに対し、ピルビン酸リン酸ジキナーゼや NADP-リンゴ酸酵素などの C4 光合成特異的な遺伝子は mRNA の蓄積段階ではあまり抑制されず、むしろタンパク質の蓄積段階で比較的強く抑制されることを見出した。いくつかの他の知見と総合して、C4 光合成遺伝子はクロストークによる統括的な発現制御を受けるもののその程度は弱く、C3 光合成の遺伝子における制御の様式とは異なっていることを示唆した。

第二編において著者は、統括的な遺伝子発現制御機構に関与すると期待された基本転写因子 TATA box-binding protein-associated factor 10 (TAF10) の機能解析を行った。動物や酵母において、TAF10 は一群の遺伝子発現に選択的に関与する基本転写因子として機能するのみならず、クロマチン変換に関与する複合体の構成因子としても知られており、遺伝子発現プロファイルのダイナミックな変化への関与が示唆されている。しかし、植物においては TAF に関する研究は皆無であった。著者は、モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて、まずそのゲノム情報から少なくとも 15 種類の TAF 遺伝子が存在する可能性を示し、TAF10 遺伝子 (*atTAF10*) を単離した。発現解析の結果、*atTAF10* は維管束系において比較的強く発現し、側根やロゼット葉、各花器官の発達段階に一過的に発現することを明らかにした。このような発現パターンは、あらゆる転写に必要とされる RNA ポリメラーゼの構成タンパク質の遺伝子とは明確に異なっていることを示した。さらに、TAF10 遺伝子を過剰発現させたり、発現を抑制させた形質転換体において、花序の有限化、未熟葉の大量発生、心皮様構造の発生などいくつかの限られた種類の形態異常の起こることを見出した。以上の結果から、*atTAF10* は形態形成に関与する遺伝子を含めた一群の遺伝子の統括的な発現制御に関与することを示唆した。

## 論文審査の結果の要旨

本論文において、著者は植物における多数の遺伝子発現が統括的に制御される現象とその分子機構に注目し、二つの側面から研究を行った。

いわゆる“葉緑体と核のクロストーク”は、葉緑体において機能するタンパク質をコードする数多くの核遺伝子の発現が健全な葉緑体の存在を必要とする現象として知られている。他の研究者によって、この統括的な発現制御に関与する遺伝子の探索も行われ、*GUN* 遺伝子など一部明らかにされてはきたが、未だ制御機構の全容は明らかになっていない。第一編において、著者は C4 光合成の遺伝子についてもこの制御機構が作動しているか否かを検討した。この種の研究の常套的な方法として、NF 処理によって葉緑体の光合成機能を失わせ、白化させたトウモロコシ葉を用いて mRNA およびタンパク質の両レベルにおいてどのような変化が起こるかを調べた。著者は NF 濃度を注意深く選択し、C4 光合成特異的な遺伝子の mRNA レベルは C3 光合成由来の遺伝子と比較して抑制の程度が弱く、むしろタンパク質レベルで比較的強い抑制を受けることを明らかにしている。これはクロストークが翻訳や輸送の段階でも起こっている可能性を初めて示唆したものと評価できる。これを受けて葉緑体のバイオジェネシスに関与するタンパク質や分子シャペロンなどについても、NF の効果をタンパク質レベルで初めて調査したが、調査した範囲では顕著に抑制されるものは見当たらず、葉緑体へのタンパク質輸送などの分子装置は白化葉においても維持されていることを示唆した。

第二編において著者は、統括的な遺伝子発現制御機構に関与すると期待された *TAF10* の機能解析を行った。*TAF10* 遺伝子は、さきに著者の研究室において、C4 植物の *Flaveria trinervia* において C3 植物の *F. pringlei* よりも強く発現される遺伝子の一つとして初めて植物から単離されたものである。動物や酵母において、*TAF10* は一群の遺伝子の統括的発現に関与する可能性が示唆されていたが、植物においては *TAF10* に関する研究は皆無であった。著者は、実験系を *Flaveria* からモデル植物のシロイヌナズナに代えて、分子生物学的な種々の手段を用いて解析をおこなった。シロイヌナズナから *TAF10* 遺伝子を単離し、本遺伝子の発現解析により、発現の組織および時期選択性を明らかにした。さらに、その発現を攪乱させることによって、未熟葉の大量発生や花序の有限化などの形態異常が引き起こされることを示した。以上の研究によって、少なくともシロイヌナズナにおいて *TAF10* が多様な植物器官の発達段階のある一時期に発現し、形態形成に寄与する遺伝子を含めた一群の遺伝子発現を統括的に制御していることを示した。本研究は、植物における TAF の機能に関する初めての研究として高く評価できる。

以上のように、本研究は、植物の環境に対する優れた適応や植物独自の多細胞体制の構築などの諸過程において、基盤的に重要と考えられる統括的な遺伝子発現制御の一端を解明しようとした研究であり、植物生理学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成17年1月24日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。