氏名	小林恭士（こばやし やすし）
学位(専攻分野)	博士（理学）
学位記番号	理博第2521号
学位授与の日付	平成14年3月25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	シロイヌナズナを用いた花成過程の分子遺伝学的研究
論文調査委員	（主査）助教授 荒木 崇　教授 岡田清孝　教授 西村いくこ

論文内容の要旨

高等植物が栄養成長から生殖成長へと移行する過程を花成という。花成は，光周期や温度等の環境要因と内生要因とにより制御される複雑な発生過程である。申請者は，花成を制御する機構の分子基盤を理解するために，特に花成時期遺伝子*FT*に着目して分子遺伝学的な解析をおこなった。

まず，*FT*遺伝子を単離し，この遺伝子が花序分裂組織の維持に関わると考えられている*TFL1*遺伝子と高い相同性を持つことを明らかにした。FTタンパク質は，様々な生物種に存在するフォスファチジルエタノールアミン結合タンパク質ファミリーに属し，細胞内外の情報伝達などに関わる因子であると予想された。発現解析の結果，*FT*遺伝子の発現は花成決定に先立って極大に達することがわかった。このことと，*FT*機能欠損変異が花成遅延表現型を示すことから，*FT*遺伝子は花成の促進に関わる重要な遺伝子であると考えられた。ついで，花成制御経路における*FT*遺伝子の位置づけを明らかにするために，光周期による花成制御経路の鍵遺伝子である*CO*遺伝子との関係を検討した。まず，*CO*機能欠損変異体においては発現が顕著に低下し，COタンパク質活性を一過的に誘導すると*FT*遺伝子の発現が速やかに上昇することを見出した。また，*FT*遺伝子の過剰発現植物は顕著な花成早化表現型を示すこと，この表現型は光周期および*CO*の機能の有無によらないことを明らかにした。これらの結果は，*FT*遺伝子が*CO*遺伝子の下流で花成を促進的に制御していることを意味するものである。さらに，*FT*過剰発現植物と花成遅延変異体を用いた遺伝解析の結果，光周期依存経路は*FT*を介し，上流から，*G1*→*CO*→*FT*→*FD*という順序で構成されていると結論づけられた。一方，*FT*過剰発現植物を用いた遺伝解析から，*FT*遺伝子は構成的促進経路と春化依存促進経路の花成抑制遺伝子*FLC*の下流にも位置づけられることが明らかになり，同様に複数の制御経路を統合すると考えられる*SOC1*，*LFY*と協調的に働いて花成という発生プログラムを実行する重要な因子であることが強く示唆された。

哺乳動物の類似タンパク質の機能解析の結果から，FTタンパク質も細胞内外の情報伝達に関わると考えられる。しかし，生化学的な機能解析が困難であると予想されるため，申請者は，FTタンパク質と分子間相互作用を持つようなタンパク質を同定することによりFTタンパク質の機能を解明する手がかりを得たいと考えた。そうしたタンパク質を同定する手順として，まず*FT*過剰発現植物が示す顕著な花成早化表現型を抑圧もしくは昂進するような突然変異とその原因遺伝子を単離し，それらがコードするタンパク質のFTタンパク質との相互作用能を検討する，という方法が有効であると期待した。そこで，新規の変異として1系統の昂進変異と5系統の抑圧変異を得て，既知の花成遅延変異の中から*fd*変異を強い抑圧変異として見出した。優性の昂進変異*cryptic precocious-1D*（*crp-1D*）は，*FT*過剰発現植物の花成早化表現型を特異的かつ劇的に昂進するもので，新規の遺伝子座に由来する花成関連変異であると期待された。遺伝子クローニングにより，*CRP*伝子は転写メディエーターに部分的な相同性があるタンパク質をコードすることが明らかになった。*CRP*遺伝子の機能欠損変異体（*crp-2*）は花成遅延表現型を示し，*CRP*遺伝子が*FT*遺伝子と同様に花成の促進に関わることが示唆された。*fd*変異が強い抑圧変異であることから，*FD*遺伝子は*FT*遺伝子の下流で機能することが予想された。遺伝子クロ

ーニングにより，*FD*遺伝子はbZIP型転写因子をコードすることがわかった。最近になって，他の研究グループにより，*FT*タンパク質と*FD*類似のbZIP型転写因子の間に直接的な分子間相互作用がある可能性が示唆された。このことから，FTタンパク質とFDタンパク質についても直接的な分子間相互作用があることが期待される。

以上の結果をもとに，申請者は，花成制御における*FT*の役割について考察し，それを取り入れた花成制御の遺伝学的な枠組みを提唱した。

論文審査の結果の要旨

高等植物が栄養成長から生殖成長へと移行する過程を花成といい，光周期や温度等の環境要因と内生要因とにより制御される複雑な発生過程である。学位申請者は，この過程を制御する機構の分子基盤を明らかにすることを目的として，花成時期遺伝子のひとつである*FT*遺伝子に着目して分子遺伝学的な研究をおこなった。

申請者は，まず，*FT*遺伝子をクローン化し，この遺伝子が花序分裂組織の維持に関わると考えられている*TFL1*遺伝子と高い相同性を持つことを明らかにした。また，発現解析の結果とすでに知られていた*FT*機能欠損変異の表現型と合わせて，*FT*遺伝子が花成の促進に関わる重要な遺伝子である可能性を見出した。そこで，花成制御経路における*FT*遺伝子の位置づけを明らかにするために，光周期による花成制御経路の鍵遺伝子である*CO*遺伝子との関係を検討し，*FT*遺伝子が*CO*遺伝子の下流で花成を促進的に制御していることを示した。申請者はさらに，*FT*過剰発現植物と種々の花成遅延変異体を用いた遺伝解析をおこない，光周期依存経路が，上流から*G1*→*CO*→*FT*→*FD*という順序で構成されていると結論づけた。また，同様の遺伝解析から，*FT*遺伝子が構成的促進経路と春化依存促進経路が収斂する位置にある花成抑制遺伝子*FLC*の下流にも位置づけられることを明らかにするとともに，*FT*遺伝子が，同様に複数の制御経路を統合すると考えられる*SOC1*，*LFY*と協調的に働いて花成という発生プログラムを実行する重要な因子であることを提唱した。これらの成果の一部は申請者を筆頭著者とする論文としてすでに公表され，これに続く他のグループの研究によって広く支持されるにいたっており，高い評価に値するものである。

FTタンパク質の生化学的機能が明らかでないことから，申請者は，FTタンパク質と分子間相互作用を持つタンパク質を同定することによりその分子機能を解明する手がかりを得ることを考えた。そのための第一歩として，*FT*過剰発現植物が示す花成早化表現型を抑圧もしくは昂進する突然変異を同定し，その原因遺伝子の単離を試みた。申請者が新規に同定した優性の昂進変異*cryptic precocious-1D*（*crp-1D*）は，新規の遺伝子座に由来する花成関連変異であり，原因遺伝子は転写メディエーターと部分的な相同性を持つタンパク質をコードするものであった。申請者はさらに，劣性の機能欠損変異体を得ることにより，*CRP*遺伝子が*FT*遺伝子と同様に花成の促進に関わる可能性を示した。申請者はまた，既知の花成遅延変異の中から見出した抑圧変異*fd*についても解析をおこない，*FD*遺伝子が*FT*遺伝子の下流で機能する可能性を示すとともに，bZIP型転写因子をコードすることを示した。本申請論文の作成中に公表された，FTタンパク質と相同性を持つトマトのSPタンパク質に関する研究結果から考えて，FDタンパク質はFTタンパク質と直接的な分子間相互作用が持つことが予想される。申請者の試みは正鵠を得たものであったと評価でき，今後の研究の発展が期待される。これらの成果は，花成の実行過程の分子機構を明らかにする糸口をつかんだ点で高く評価できる。また，高等真核生物では転写メディエーターの機能喪失変異体の例が稀少であることを鑑みて，*CRP*遺伝子の研究は花成という研究領域を超えて大きく発展する可能性が期待される。

以上の観点から，本申請論文は優れた内容を持つものであり，博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。また，論文内容と関連研究分野についての口頭試問をおこなった結果，合格と認めた。