

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	丹羽 優喜
論文題目	シロイヌナズナ FT 蛋白質と相互作用する新奇因子の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>近年のモデル植物シロイヌナズナを用いた研究を中心として、葉で適切な日長に応答して産生され、茎頂分裂組織へと花成刺激を伝える長距離花成シグナル物質フロリゲンの本体が、<i>FLOWERING LOCUS T (FT)</i> 遺伝子にコードされる FT 蛋白質であることが明らかになった。FT 蛋白質は茎頂分裂組織において 14-3-3 蛋白質を介して転写因子 FD と相互作用し、下流遺伝子の発現を誘導することで花成を引き起こすと考えられている。しかしながら、FT 蛋白質および他の植物種における FT 相同蛋白質は花成を誘導するだけに留まらず、側芽の発生や塊茎形成、葉の形態などといった、多様な発生現象に関わることが示唆されている。</p> <p>本研究では、これらの未解明の FT 蛋白質の部位特異的・現象特異的な作用メカニズムを明らかにすることを目的とし、FT 蛋白質と相互作用する新奇因子の探索を行った。FT 蛋白質の機能が下流遺伝子の転写制御であると考えられることから、転写因子を新奇相互作用因子として想定し、転写因子ライブラリを用いて網羅的なスクリーニングを行った。その結果、TCP (Tb1, CYC, PCF) 転写因子群に属する転写因子が候補として多く得られた。そのため、TCP 転写因子群の中から、側芽の発生に関わる BRANCHED1 (BRC1) 蛋白質に注目し、側芽の発生における BRC1 蛋白質と FT 蛋白質の役割を調べた。まず、FT 蛋白質と BRC1 蛋白質との相互作用を、酵母細胞内、試験管内、植物細胞内において示した。また、シロイヌナズナにおける FT 相同蛋白質であり、花成を促進する TWIN SISTER OF FT (TSF) と花成を抑制する TERMINAL FLOWER1 (TFL1) についても BRC1 との相互作用を調べた結果、TSF は相互作用を示したが、TFL1 は相互作用を示さないことが明らかになった。さらに、FD 蛋白質との場合とは異なり、BRC1 蛋白質と FT 蛋白質との相互作用には 14-3-3 蛋白質が介在しないことを示した。さらに、BRC1 蛋白質との結合に重要な FT 蛋白質のアミノ酸残基を特定し、14-3-3 蛋白質の結合部位とは異なる部位にあることを示した。次に、FT 蛋白質が側芽においても存在するかについて調べた結果、側芽において FT 遺伝子は発現していなかったが、葉で発現した FT 蛋白質が側芽へも移動することが示された。また、<i>brc1</i> 変異体を用いた解析により、<i>BRC1</i> 遺伝子は側芽の相転換を遅延させる働きがあることが示された。さらに、<i>ft</i> 変異体や既知の花成関連遺伝子の変異体の表現型解析と、<i>brc1</i> との二重変異体の作出による遺伝学的関係の解析などから、BRC1 蛋白質の相転換遅延効果は、FT および TSF 蛋白質の機能を阻害することにより発揮されているというモデルが立てられた。このモデルは、側芽において <i>BRC1</i> 遺伝子が FT 下流遺伝子の発現を抑制していることや、茎頂分裂組織において異所的に <i>BRC1</i> 遺伝子を発現させた場合に花成が遅延することからも支持された。</p> <p>以上の結果より、フロリゲン FT/TSF の活性が、側芽特異的な因子である BRC1 蛋白質によって調整されていることが明らかになった。本研究により、フロリゲン活性が部位特異的に調節されている初めての例が示され、受容部位によるフロリゲンに対する感度の違いや応答の違いを説明するモデルとなりうると考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文では、フロリゲン (FT蛋白質) がさまざまな植物種において花成のみでなく、側芽の発生や塊茎形成、葉の形態形成といった多様な発生現象に関わることに着目し、シロイヌナズナにおいてFT蛋白質と相互作用する新奇因子の探索をおこなった。これにより、FT蛋白質による花成促進機構の理解を深めるとともに、FT蛋白質の新たな生理機能を明らかにすることを目指した。シロイヌナズナの花成促進に関するこれまでの研究から、FT蛋白質を含む複合体の機能が転写制御であると考えられることから、新奇相互作用因子として転写因子を想定し、2種類のシロイヌナズナ転写因子ライブラリを用いてFT蛋白質と相互作用する可能性のある蛋白質の網羅的なスクリーニングをおこなった。その結果得られた候補には、複数種のTCP転写因子が含まれており、本論文ではTCP転写因子に着目し、その中でも側芽の発生に関わるBRANCHED1 (BRC1) 蛋白質に注目して、側芽の発生におけるBRC1蛋白質とFT蛋白質との相互作用の意義を調べた。

まず、BRC1蛋白質とFT蛋白質の相互作用を、酵母細胞内、試験管内、植物細胞内においてそれぞれ示すとともに、FD蛋白質の場合とは異なり、BRC1蛋白質はFT蛋白質との結合に14-3-3蛋白質を必要としないことを明らかにした。また、FT蛋白質上でBRC1蛋白質との相互作用に必要なアミノ酸残基を同定し、BRC1蛋白質が、14-3-3蛋白質の結合部位とは異なる部位に結合することを示した。次いで、葉の維管束篩部で発現するFT蛋白質が、BRC1蛋白質が発現している側芽にも輸送される可能性を検討した結果、側芽ではFT遺伝子は発現しないこと、葉で発現したFT蛋白質はその葉腋にある側芽へも移動することが示された。*ft*変異体の解析から、FT蛋白質は側芽においても花成を促進する役割を持つことが明らかになった。一方、*brc1*変異体を用いた解析により、BRC1遺伝子は側芽の相転換を遅延させる働きがあることが示された。さらに、*ft*変異体や既知の花成関連遺伝子の変異体の解析などから、BRC1蛋白質の相転換遅延効果は、FT蛋白質の機能を阻害することにより発揮されているというモデルが導かれた。このモデルは、側芽においてBRC1蛋白質がFT下流遺伝子の発現を抑制していることや、茎頂分裂組織において異所的に発現させたBRC1遺伝子が花成を遅延させることから支持された。

以上の結果より、本論文は、フロリゲンが側芽の花成促進にも関わること、側芽におけるフロリゲン活性は側芽特異的な因子であるBRC1蛋白質によって調整されていることを示した。本論文は、フロリゲン活性が植物体の部位特異的に調節されていることを示した初めての例であり、今後、植物体内の部位によるフロリゲンに対する感度や応答の違いを考える際のモデルとなることが期待される。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25年6月11日および12日に、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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日