

学 位 審 査 報 告 書

(ふ り が な) 氏 名	あき しおり 安喜 史織
学位 (専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 号
学位授与の日付	平成 年 月 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) Functional analyses of <i>SAP130</i> gene in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナにおける <i>SAP130</i> 遺伝子の機能解析)	
論 文 調 査 委 員	(主査) 青山卓史 教授 大野睦人 教授 阿形清和 教授

理 学 研 究 科

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	安喜 史織			
論文題目	Functional analyses of <i>SAP130</i> gene in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナにおける <i>SAP130</i> 遺伝子の機能解析)					
(論文内容の要旨)						
COP9 シグナロソーム (CSN) は動植物に広く保存されたタンパク質複合体であり、ユビキチン-プロテアソーム系タンパク質分解調節を制御することでさまざまな生命現象に関与する。一方、タンパク質分解調節機構と独立に働く CSN の機能が近年明らかになっている。本申請論文においては、CSN が生体において担う機能の全容解明に向けた重要な研究対象として、CSN と直接結合するタンパク質のひとつである <i>SAP130</i> の生物学的機能に着目し、その解析を行った。<i>SAP130</i> は、スプライソソームを構成する因子であるとともに、その他複数の遺伝子転写調節複合体の因子としても同定されている。しかし、<i>SAP130</i> そのものの機能や複合体間の相互作用への関わりについては明らかでない。 シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) の <i>SAP130</i> は、第 3 染色体上の 2 つの遺伝子 (<i>AtSAP130a</i> および <i>AtSAP130b</i>) にコードされている。これらの遺伝子の転写産物を器官別に解析した結果、両遺伝子は類似した発現様式であることが示された。またプロモーター活性の解析において、両遺伝子のプロモーターは共に葯形成の特定の時期に強い活性を示した。これらの結果は <i>AtSAP130a</i> および <i>AtSAP130b</i> の機能の重複性を示唆する。そこで RNAi 法を用いて両遺伝子を標的とした発現抑制株 (<i>AtSAP130</i> RNAi 株) を作製し、その表現型の解析を行った。その結果 <i>AtSAP130</i> RNAi 株では稔性の低下がみられた。さらに花粉形成に着目して解析を行ったところ、花粉形成過程の microspore stage から bicellular stage への移行に異常がみられ、野生株に比べ正常な成熟花粉の割合が低いことが明らかになった。このことから、<i>SAP130</i> の機能は正常な花粉形成に必須であると考えられた。 <i>csn1</i> 変異体を部分相補する形質転換株の一つである <i>fus6/CSN1-3-4</i> 株では、光形態形成に関する表現型は回復するものの、<i>AtSAP130</i> RNAi 株と同様に稔性の低下と花粉形成の異常が観察された。これらの結果から、<i>SAP130</i> と CSN の機能がともに花粉形成において重要な役割を担うことが強く示唆された。 CSN は核内で多様な制御因子と直接相互作用を行なうことにより、様々な経路を通じて遺伝子発現制御に関わるものと考えられている。本申請論文では、<i>SAP130</i> の機能解析を通じて、植物の CSN の重要な生物学的機能が一つ明らかにされたと言える。なお、主論文の基礎となる論文 1 編は申請論文の研究成果の一部を共著者とともに公表したものである。						

(論文審査の結果の要旨)

本申請論文では、シロイヌナズナの *SAP130* 遺伝子、*AtSAP130a* および *AtSAP130b* がもつ花粉形成における役割を初めて明らかにした。

これまでの研究により、動植物の CSN は多くの核内制御タンパク質と直接相互作用を行なうことが知られており、遺伝子発現制御において何らかの統御的役割を果たすものと考えられてきた。実際に植物では、シロイヌナズナを用いた遺伝学的解析により、CSN の暗所形態形成における中心的な役割が示されている。その制御系において CSN は転写因子などのタンパク質分解調節を介した遺伝子発現制御を行なうことが詳細に明らかになっている。一方、タンパク質分解調節以外の経路を介した CSN による制御機構については、これまで動植物を通じて殆ど未解明のままであった。

そこで本申請論文では、CSN による新たな制御経路を見出すべく、動物系で明らかになった CSN 結合タンパク質である SAP130 に注目してその生物学的機能解析を行なった。シロイヌナズナの SAP130 は近接した 2 つの遺伝子 *AtSAP130a* および *AtSAP130b* にコードされている。これらの遺伝子の転写産物およびプロモーター活性の解析を器官、組織別に解析した結果、両遺伝子は類似した発現様式をもち、共に葯形成の特定の時期に強く発現することが示された。これらの結果より *AtSAP130a* および *AtSAP130b* が葯または花粉形成において重複的に機能することが示唆された。SAP130 はスプライシング因子 SF3b のサブユニットとして知られており、それが器官発生の特異的な時期に強く発現することは、器官発生におけるスプライシング制御を考える意味で非常に興味深いものである。

つぎに本申請論文では、シロイヌナズナにおける常套手段である遺伝学的機能解析へと研究を進展させた。2 つの遺伝子 *AtSAP130a* および *AtSAP130b* は発現様式の類似性が高いだけでなく構造上も酷似していることから、一方のみの変異では表現型を得ることが困難であると考えられた。しかし、両遺伝子は同一染色体上の非常に近接した位置に存在するため、たとえそれぞれに適当な変異体が存在したとしても両者の 2 重変異体を得ることはほぼ不可能であると判断された。そこで、RNAi 法を用いて両遺伝子を同時に標的とした発現抑制株を作製し、その表現型の解析が行われた。その結果、まず *AtSAP130* RNAi 株では稔性の低下がみられた。さらに花粉形成に着目して解析を行ったところ、花粉形成過程の microspore stage から bicellular stage への移行に異常がみられ、野生株に比べ正常な成熟花粉の割合が低いことが明らかになった。このことは SAP130 の機能が正常な花粉形成に必須であることを示している。これらの解析は緻密かつ詳細に行なわれており、花粉成熟過程にお

ける異常が高精度で記述されている点を高く評価できる。

さらに、SAP130 の花粉成熟過程における機能と CSN との関わりを調べるために、SAP130 と直接相互作用する CSN 複合体のサブユニットである CSN1 に関する変異体の表現型が解析された。その結果、*csn1* 変異体の部分相補体株の一つである *fus6/CSN1-3-4* 株で、*csn* 変異体において一般的に見られる光形態形成などの表現型は回復されるものの、*AtSAP130* RNAi 株と同様に稔性の低下と花粉形成の異常が観察された。この結果は SAP130 と CSN の相互作用の花粉形成過程における重要性を示唆するものと考えられた。

CSN による遺伝子発現制御は多岐の経路に及ぶと考えられる。また、それぞれは複雑に相互作用を行なっていると考えられることから、それらの包括的な解析は非常に困難であると想像できる。この意味において、本申請論文は CSN に対する結合タンパク質である SAP130 の解析を通じて、CSN の新たな生物学的機能を明らかにしたと言え、非常に意義深いものである。これを起点として、CSN が統御する核内シグナル伝達機構の研究が進展することが大いに期待される。

以上のことから、本申請論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 23 年 8 月 4 日に論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。