

# 論文審査の結果の要旨

氏名 笠井（馬場）晶子

本論文は3章からなり、第1章は「イネ・フィトクロム遺伝子の制御領域のクローニングと生理機能評価」、第2章は「イネ・フィトクロムの発現量と光受容機能との相関」、第3章は「イネ・フィトクロム遺伝子の発現特性とフィトクロム B によるフィトクロム A 遺伝子の発現制御」について述べられている。

本論文の主題は、フィトクロムの主要分子種である *phyA* と *phyB* の光受容機能の違いが、①タンパク質構造の違いによるものか、あるいは、②発現量や発現部位の違いによるものかを逆遺伝学的手法で明らかにすることである。そのために、まず第1章では、各フィトクロム遺伝子の発現制御領域をクローニングし、それらが本来の発現制御活性を持つことを各種フィトクロム突然変異体を用いた相補実験で確認した。逆遺伝学的に発現量や発現部位の違いを議論する上で、適正な発現制御領域を用いることは大前提である。本章では、幼葉鞘の伸長抑制反応と日長制御下での開花時期と云う異なる2種類の光応答反応でそれぞれの発現制御領域が本来の活性を保持していることを確認しており、第2章、第3章で、主題に切り込む準備が整ったと云える。

第2章では、まず、①の問いに対する結果が示されている。構造生物学的に明らかにされた *phyA* と *phyB* の差異（ヒンジ領域の2量体形成能）に着目し、*phyB* のヒンジ領域で2量体形成に関与しているアミノ酸を置換して *phyA* 型 (*phyB\**) にして *PHYB* 遺伝子の発現制御領域の下流につなげて突然変異の相補実験を行った。その結果、*phyA* 変異を相補した系統が出現したが、*phyB* 変異を相補した系統も得られ、同一のコンストラクトを導入したにもかかわらず、表現型が分離した。そこで、発現しているタンパク質量をウェスタン分析で調べたところ、*phyB* 変異を相補している個体では *phyB\** が WT と同程発現しているが、*phyA* 変異を相補している個体では、*phyB\** の発現量が WT に比べて著しく少なかった。したがって、相補実験における表現型の違いは *phyB\** の構造の変化に依るのではなく、低発現量の場合は *phyA* 変異を相補し（すなわち、*phyB* 変異体の表現型）、適正な発現量の場合は *phyB* 変異を相補する（*phyA* 変異の表現型）と云うように発現量の違いによることが分かった。この結論は、野生型の *PHYB* 遺伝子による相補実験で出現したサイレンシング系統（*PHYB* 遺伝子の発現が著しく低い）が *phyA* 変異を相補したことからも裏付けられた。これらの結果は、イネ *phyA* の光形態形成反応における赤色光受容は、低発現量のイネ *phyB* によって模倣されることを示しており、*phyA* と *phyB* の光受容機能の違いが、フィトクロムタンパク質の構造ではなく発現量の違いによることが強く示唆された。

第3章では、*GUS* 遺伝子をレポーターとして *phyA* と *phyB* の発現の組織特異性を比較している。まず、*PHYA::GUS* は暗所芽生えでは葉の全組織で強く発現していたが、明

所芽生えの展開葉においては維管束特異的な発現パターンを示した。一方、*PHYB::GUS* は葉全体で弱く発現していた。これらの観察は、光シグナルのない環境下では *PHYA* 遺伝子は葉の全組織で発現しているが、光シグナルがあると維管束以外の組織（主に葉肉細胞）での発現が抑制されることを示している。

そこで光シグナルの正体を明らかにするため、*PHYA* 遺伝子の発現抑制に有効な光質を調査したところ、赤色光は白色光と同様の効果を示したが、遠赤色光や青色光は無効であることが分かり、フィトクロムの関与が示唆された。そこで、*PHYA::GUS* をフィトクロム変異体 (*phyA*, *phyB*, *phyAphyB* 変異体) に導入して、*phyA* と *phyB* のどちらの分子種が *PHYA* 遺伝子の発現抑制に関与しているかについて検討した。その結果、葉肉細胞で発現している *phyB* が光シグナルを受けて *PHYA* 遺伝子の発現を抑制しているとの結論に至った。

第2章の結論と合わせて考えると、冒頭の問題に対する答えとして、*phyA* と *phyB* は、タンパク質分子としての光受容機能に違いはないが、発現量 (*PHYA* は暗所で大量に発現する) や光安定性 (*phyA* は光を受容すると速やかに分解する) の違い及び相互作用 (*phyB* が光シグナルを受けて *PHYA* 遺伝子の発現を抑制する) によって局在性が生じ、それぞれの特異的な光応答反応を引き起こしているとの結論づけている。

植物の主要な光受容体であるフィトクロム、*phyA* と *phyB* の分子種間で発現制御に関して相互作用があることは、今回イネを用いて初めて明らかになったことであり、これまでのフィトクロム突然変異体の表現型の解釈にも影響を及ぼす重要な発見であると考えられる。

なお、本論文第3章は、原 奈穂、高野 誠との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1891 字