

# 論文審査の結果の要旨

氏名 吉田 聡子

本論文はシロイヌナズナを用いた分子生物学的及び分子遺伝学的解析を通じて、緑葉の老化の進行に関わる分子メカニズムの一端を明らかにしている。第一章、第五章はそれぞれ序論と総合考察を述べ、研究の成果は三つの章からなっている。第二章では、緑葉の老化に伴って転写産物量が増加する遺伝子の単離と解析を、第三章では、老化が早くなる変異体の解析とその原因遺伝子の解明を、また第四章では老化が遅くなる変異体の単離と解析および原因遺伝子の単離について述べられている。

緑葉の老化は葉齢の増加によってのみではなく、様々な環境の変化によっても誘導される。老化の過程では細胞内構成成分の分解が起こることが知られており、高等植物は不利な環境に出会って十分な光合成を維持することが出来なくなると、齢を重ねた葉を積極的に老化させ、栄養分の有効利用を図る仕組みを備えていると考えられる。葉の老化の過程では遺伝子発現が必須であり、老化の進行は遺伝的にプログラムされていると考えられる。しかし、老化に関する遺伝学的な研究は不十分であり、本論文では、老化の遺伝的プログラムを分子生物学的および分子遺伝学的アプローチを用いて解明しようと試みている。

## (1) 老化の分子マーカー *yellow-leaf-specific (YLS)* 遺伝子の単離と解析

第二章では老化の分子マーカーと成りうる遺伝子 *YLS1-YLS9* の cDNA 断片をディファレンシャル・ディスプレイ PCR 法を用いて単離した。さらにこれらの遺伝子の全長 cDNA の塩基配列を決定し、そのホモロジーサーチをおこなうことによりその機能を推測した。また、これらの遺伝子の自然老化と暗処理、植物ホルモン処理によって人為的に誘導した老化における転写産物の蓄積パターンを調べた。その結果、自然老化と人為的に誘導した老化は分子レベルでは必ずしも一致するものではなく、老化の過程は複雑な制御を受けていることが示唆された。これらの遺伝子のうち、*YLS4*, *YLS6* および *YLS9* は植物体の他の器官に比べて老化葉で顕著な転写産物の蓄積が観察されたため、次の章ではこれらの遺伝子を老化の分子マーカーとして用いた。

## (2) 老化が早くなる変異体 *hypersenescence 1 (hys1)* の解析

第三章では、老化の進行に異常が生じる変異体の単離を目的として、芽生えを暗所においたときに野生株に比べて子葉の黄色化が早い変異体および遅い変異体を選抜している。*hys1* 変異体は EMS 処理によって変異を導入したシロイヌナズナの M2 種子プールから単離された。解析の結果、*hys1* 変異体では老化の開始時期が早いこと、外部から与えられた糖に対して高感受性を示すことトライコームの形態が異常になることを発見した。また、map-based cloning 法を用いて *HYS1* 遺伝子を同定し、*HYS1* 遺伝子が N 末に核移行シグナルを C 末に膜貫通領域を持つと予想される新規タンパク質をコードすることを明らかにした。さらに、本論文では *HYS1* 遺伝子が病原菌抵抗性獲得に関わると考えられていた *cpr5* 変異体の原因遺伝子であること

を明らかにし、老化および病原菌抵抗性の過程が HYS1 を介して同一の遺伝的プログラムによって制御される可能性を提示している。

### (3) 老化が遅れる変異体 *dls1* の単離と解析

第三章では、老化が遅くなる変異体 *delayed leaf senescence 1 (dls1)* を T-DNA タグラインから単離し、その解析をおこなっている。*dls1* は一遺伝子座における劣性変異で、暗処理によって誘導される老化および自然老化の進行が野生株よりも遅くなる特徴を持つ。さらに、挿入 T-DNA 配列をもとにして *dls1* 変異体の原因遺伝子を決定した。*dls1* 変異体の原因遺伝子は、アルギニル tRNA:プロテイン アルギニルトランスフェラーゼ (以下、アルギニルトランスフェラーゼと呼ぶ) をコードする *AtATE1* 遺伝子であることが明らかになった。

アルギニルトランスフェラーゼは、酵母、哺乳類などでは N 末則タンパク質分解系に関与していることが明らかになってきたが、植物ではその機能は不明であった。トランジェントアッセイ系を用いて *dls1* 変異体における N 末則タンパク質分解系の活性を測ったところ、*dls1* 変異体では確かに N 末則に異常が生じていることが明らかになった。この結果はアルギニルトランスフェラーゼが植物においても N 末則に関わっていることを明確に証明するものであり、また、N 末則タンパク質分解系が葉の老化の際にはたらいていることを示唆するものである。このことは、老化分子機構研究における新規な知見であるばかりか、植物における N 末則タンパク質分解系の生理的役割を明確にした初めての例である。

以上の結果はいずれも、葉の老化の分子機構を理解する上で新奇かつ重要な事実を証明している。また、*hys1* 変異体の解析をとおして老化と抵抗性獲得の過程が糖シグナルの影響を受ける共通の遺伝的プログラムによって制御されるという新しい可能性を提唱している。さらに、*dls1* 変異体の解析をとおして今まで全く生理学的な機能に関する知見の得られていなかった植物の N 末則の生理学的な意義を示している。

本論文は渡邊昭、西田生郎、伊藤正樹、Judy Callis との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証をおこなったもので、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（理学）の学位を授与できると認める。