

論文審査の結果の要旨

氏名 五百城 幹英

本論文は2章からなる。第1章では、キュウリ CPD 光回復酵素遺伝子 (*CsPHR*) の転写誘導に関与している光受容体の光波長特異性を明らかにすることを目的に、*CsPHR* の発現がどの波長の光で誘導されるのかを単色光照射実験により検証した。材料には、キュウリの実生を用いた。単色光照射は、大型の照射型分光器である基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを用いて行った。作用スペクトルの解析の結果、*CsPHR* の転写が UVB および青色光により誘導されることが明らかになった。中でも 310 nm 付近の波長をもつ長波長 UVB により転写が最も効率良く誘導された。このことは、長波長 UVB に特異的に感知し、そのシグナルを下流に伝える何らかの光受容体の関与を示唆した。長波長 UVB を特異的に受容する光受容体は様々な光応答反応に関与していることが示唆されているが、現在のところどの生物でも同定されていない。したがって、*CsPHR* の転写誘導には未同定の UVB 光受容体が関与していると考えられた。

第2章は、レポーター遺伝子を用いた *CsPHR* プロモーター解析について述べられている。*CsPHR* プロモーターをレポーター遺伝子につないでシロイヌナズナに導入した組換え体を作製し、UVB 応答に必須なプロモーター領域を同定することを目的としてプロモーターデリション実験を行った。その結果、翻訳開始点の上流 202 - 296 bp のプロモーター領域が *CsPHR* の UVB による転写誘導に必須であると考えられた。続いて、この 95 bp のプロモーター領域が単独で UVB 応答を引き起こすことが出来るかを調べるために、*CaMV 35S* 最小プロモーターを用いた gain-of-function 実験を行った。*CsPHR* の UVB による転写誘導に必須であると考えられた 95 bp のプロモーター領域を *CaMV 35S* 最小プロモーターおよびレポーター遺伝子につないでシロイヌナズナに導入した組換え体を作製し、UVB 照射実験を行った。その結果、これらの組換え体において UVB によるレポーター発現の誘導は見られず、この 95 bp のプロモーター領域は UVB 応答に必須であるが単独では UVB 応答の転写誘導を引き起こすことが出来ないことが明らかになった。したがって、この 95 bp の領域に存在する *cis* 因子と協働的に働く他の *cis* 因子が翻訳開始点の上流 201 bp 以内に存在すると考えられた。翻訳開始点上流 202 - 296 bp の領域には ACGT をコア配列としてもつ DNA モチーフ (ACGT エlement) が 3 つ存在している。ACGT エlement は、光合成関連酵素遺伝子やフラボノイド合成関連酵素遺伝子の光依存的転写誘導に関与することが知られている。したがって、これらが *CsPHR* の UVB による転写誘導に必須な *cis* 因子である可能性が高いと考えられた。

長波長 UVB を特異的に受容する光受容体は、現在のところどの生物でも知られておらず、*CsPHR* の転写誘導に関与していると考えられる UVB 光受容体の正体は不明である。しかしながら、本研究によって、*CsPHR* プロモーターの翻訳開始点上流 202 - 296 bp の領域と翻訳開始点上流 201 bp 以内の領域に存在すると考えられる *cis* 因子が協働的に働いて光回復酵素の発現を誘導することが示された。また、本研究により CPD 光回復酵素遺伝子の発現やそのプロモーターの活性化によるレポーター発現を指標として植物における UVB 光受容メカニズムおよびその下流のシグナル伝達機構を解明していくことが出来ることが示された。

なお、本論文は、論文提出者が主体となって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 (理学) の学位を授与できると認める。