

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 鐘ヶ江弘美

固着生活をする植物は、周囲の環境変化に適応する能力が発達している。植物を取りまく環境変化の情報が細胞に伝達される過程で、様々なタンパク質リン酸化酵素（プロテインキナーゼ）が重要な役割を果たしていることが知られている。本論文は、イネのプロテインキナーゼによる環境適応の分子機構の解明を目的として、光環境応答を制御するプロテインキナーゼであるフィトクロムとフォトトロピン、糖・エネルギー代謝を制御するプロテインキナーゼである **SnRK1** に着目し、それぞれの遺伝子の単離・解析を行った。

1. イネフィトクロム遺伝子の単離・解析

植物の光受容体のうち、フィトクロムは主に赤色光と遠赤色光を吸収する光受容体である。発芽・莖の伸長・花芽形成など光形態形成に重要な役割を果たし、また多くの光応答遺伝子の発現を制御している。イネのフィトクロムを調べたところ、*PHYA*、*PHYB*、*PHYC* という 3 つの遺伝子が存在していることが明らかとなり、これらの遺伝子を単離した。

イネの内在性レトロトランスポゾン *Tos17* を転移させて作成した遺伝子破壊システムをスクリーニングし、*phyA* 突然変異体を単離した。*phyA* 突然変異体は、遠赤色光照射下で発芽させても暗所黄化芽生えと同様の形態を示した。すなわち、*phyA* 突然変異体では、遠赤色光照射による子葉鞘とメソコチルの伸長抑制や冠根の重力屈性誘導が認められず、*phyA* が遠赤色光を感知して光形態形成反応を引き起こす主要なフィトクロム分子種であることをイネで初めて証明した。

2. イネ フォトトロピン遺伝子の単離・解析

植物にとって光屈性や光に依存した葉緑体の細胞内移動（葉緑体光定位運動）は、光合成を効率よく行うために重要な光生理反応であり、これらの反応は青色光によって誘導される。イネにおけるこれらの光反応機構を解明するため、光受容体型プロテインキナーゼのフォトトロピン遺伝子をイネで初めて単離し解析を行った。

イネ cDNA ライブラリーより 2 種類の cDNA を単離し、これらを *OsPHOT1* と *OsPHOT2* と名付けた。これらの遺伝子のイネ染色体上の位置を調べたところ、*OsPHOT1* は第 11 染色体に、*OsPHOT2* は第 4 染色体に位置していることが明らかとなった。*OsPHOT1* が位置している第 11 染色体短腕テロメア近傍との重複が示唆されている第 12 染色体上の領域にも *OsPHOT1* 遺伝子が存在していた。そこで第 11 染色体上に存在

している遺伝子を *OsPHOT1a*, 第 12 染色体上に存在している遺伝子を *OsPHOT1b* とした。

暗所で生育したイネの芽生えにおけるイネフォトトロピン遺伝子の発現を調べたところ、*OsPHOT1* は子葉鞘において強く発現しているのに対し、*OsPHOT2* は葉で強く発現していた。芽生えを暗所から白色光に移した場合、子葉鞘における *OsPHOT1* の発現量は減少したが、葉における *OsPHOT2* の発現は徐々に増加した。*OsPHOT1* と *OsPHOT2* はイネの芽生えで異なる発現様式を示すことが明らかとなり、*OsPHOT1* と *OsPHOT2* がイネにおいて異なる役割を果たしていることが予測された。

3. イネ SnRK1 遺伝子の単離・解析

SNF1/AMPK/SnRK1 キナーゼは酵母・動物・植物で広く保存されており、エネルギーや代謝を制御していることが報告されている。そこでイネにおけるシグナル伝達と代謝の関係を調べるため、イネの SnRK1 遺伝子の単離し、解析した。

単子葉植物の SnRK1 はアミノ酸配列と発現の違いから SnRK1a と SnRK1b の 2 つのグループに分けることができる。イネの SnRK1 も SnRK1a (*OSK1*) と SnRK1b (*OSK24*, *OSK35*) という 2 つのグループに分けることができた。イネの SnRK1b をコードする *OSK24* と *OSK35* のゲノム配列を比較すると第 1 エキソンには全く相同性がないことが明らかとなった。そこで *OSK24* の第 1 エキシソンの配列を解析した結果、新規の散在性反復配列が見出された。この反復配列が 3 つのタンデムリピートを含むことから *Mitugo* と名付けた。*Mitugo* は 452 塩基対の長さで、日本晴ゲノムに 47 コピー存在していた。

イネ SnRK1 遺伝子 *OSK* の役割を明らかにするため、これらの遺伝子の発現部位を、形質転換イネにおける GUS レポーター遺伝子の発現と *in situ* ハイブリダイゼーションにより調べた。*OSK1* は維管束で発現したのに対して、*OSK24* は登熟初期には果皮で発現したが、胚乳細胞が形成されると胚乳で発現した。これらの結果から *OSK24* の発現部位の変化とデンプン粒の出現に相関関係があることがわかった。別のシンク器官である葉鞘基部においても同様の関係が見出された。このことからイネの *OSK24* (SnRK1b) がシンク器官における糖質代謝において重要な役割を果たしていることが示唆された。

以上本論文は、イネの光環境応答および糖代謝に関与するプロテインキナーゼを単離し、これらの環境応答における役割を明らかにしたものである。プロテインキナーゼによる環境応答とその機能の解明は、学術上のみならず応用上も今後の環境変動に適応可能なイネの育成に貢献することができると考えられる。したがって、審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。