

論文審査の結果の要旨

氏名 高瀬 将映

本論文は General introduction, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements, References, Appendices からなる。論文提出者は本論文で、シロイヌナズナをモデル系として、概日時計による制御と、光環境に基づく葉の被陰反応の制御とが、どのように関わっているのかを、発生遺伝学的にまた分子遺伝学的に解析している。

提出者は本論文において、シロイヌナズナの時計補助因子群の一つである転写制御因子 *PRR9* / *PRR7* / *PRR5* に着目している。過去の先行研究によれば、これらの転写因子の変異体を用いた解析から、*PRR9* / *PRR7* / *PRR5* 遺伝子は概日時計の位相および周期を調節していると考えられており、これら全てが欠損すると概日リズムが消滅するが、いずれかが一つが正常ならば、位相や周期に異常はあるがリズム自体は保たれることが知られている。また *PRR9* / *PRR7* / *PRR5* の3つの因子は互いに極めて類似した配列を持つことから、*PRR9*/*PRR7*/*PRR5* は類似した機能を持ち、重複的に働いていると考えられてきた。これらの3つの因子の本質的な違いは、概日リズムの上で発現時間帯が異なること、すなわち順に発現をリレーしていくことがその機能の本質であると考えられてきた。

しかし本研究において提出者は、*prp9 prp7 prp5* 三重変異体の表現型を観察すると、まるで光条件の質が低いときに植物が見せる反応、被陰反応を発揮しているかのように見えることに注目した。もし *PRR9* / *PRR7* / *PRR5* 遺伝子の全てが欠損した結果が、概日リズムの消滅だけであれば、被陰反応が起きることを説明できない。被陰反応は、昼間と植物が判断している時間帯において光の質あるいは量が不足しているときに発揮される現象である。

そこで提出者は避陰応答のマーカー遺伝子である *HFR1* の発現を調べた。すると三重変異体において、*HFR1* の発現は暗期において著しく発現が上昇していた。さらに、避陰応答の正の制御因子である *PIF4* および *PIF5* の発現が、*prp9/7/5* では周期性を失い、かつ野生型の10~20倍に上昇していた。ここで提出者の研究の独自性は、*PIF4* および *PIF5* の発現が周期性を失っているばかりか、桁違いに発現上昇している点に注目したことである。

次に提出者は、明期の終わりに近赤外光（ピーク波長:735 nm）を照射し、人為的にフィトクロムの平衡状態を変化させて避陰応答を誘導する処理（EOD-FR 処理）を行なった。すると *prp9/7/5* 三重変異体のみならず *prp7/5* 二重変異体においても、避陰応答のマーカー遺伝子 *HFR1* の発現が対照区より著しく上昇するという結果を得た。さらに、*PRR9* および *PRR7*、*PRR5* のそれぞれの遺伝子の機能欠損型変異体および過剰発現体について EOD-FR 処理を施すと、*PRR9* / *PRR7* / *PRR5* 遺伝子の単一の変異体のうち、*prp5* 変異体

でのみ、*HFR1* が野生型の 2 倍以上発現し、逆に *PRR5* 過剰発現体でのみ EOD-FR 処理による *HFR1* の発現誘導が著しく抑制されることが判明した。この事実から提出者は、*PRR9/PRR7/PRR5* は類似した機能を持ち、重複的に働いているだけでなく、*PRR5* にはそれとは別に、被陰反応誘導後の、応答の強度を負に制御するという、*PRR9* および *PRR7* には存在しない独自の機能を持つと提唱した。

さらに提出者は *PRR5* および *PIF5* の過剰発現体（以後、*PIF5oxPRR5ox*）を作成したところ、*PIF5oxPRR5ox* では *PRR5ox* と同様に、胚軸の伸長が著しく抑制され、避陰応答のマーカー遺伝子 *HFR1* の発現も抑制されることを見いだした。従来、*PRR5* は赤色光受容体の *PhyA* および *PhyB* シグナルの下流を制御していると推測されていたが、この解析結果により、*PIF5* の下流を制御していることが明らかになった。さらに *prp9* および *prp7*、*prp5* 変異体を白色光に近赤外光を付与した光条件下で栽培した結果、近赤外光照射による葉柄の伸長促進は、*prp9* および *prp7* のそれぞれの単一遺伝子の機能欠損においては野生型と同程度であったが、*prp5* 変異体は野生型の倍近い著しい表現型を示した。また、*prp9* および *prp7* のそれぞれの単一機能欠損においては、近赤外光照射により葉身の展開が抑制されたが、*prp5* では抑制されなかった。以上の結果から、*PRR5* が葉身特異的な避陰応答の抑制に関与していることを見いだされた。

上記の諸知見は、生物時計と光環境に対する葉の形態的応答との間に、これまで知られていなかった遺伝的連関があることを初めて示したものであり、*PRR5* が *PRR9*、*PRR7* とともに概日時計の補助因子として重複的に働くだけではなく、*PIF5* 下流での避陰応答の強度の抑制、および葉身特異的な避陰応答の抑制という独特の機能を持つことを初めて明らかにした点で、画期的な研究成果と評価される。本論文の主要内容は、提出者を筆頭著者として、すでに植物の環境応答に関する国際誌 *Plant Signaling & Behavior* に掲載が確定されている。なおこの論文は、溝口剛博士、小塚 俊明博士、塚谷 裕一博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析及び検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。また論文の英語も質の高いものであった。

したがって、博士（理学）の学位を授与できるものと認めるものである。