

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 尹 禎敏

本研究は、植物ホルモン・ジベレリン(GA)の信号伝達機構を解析する上で有用な新分子ツールの発掘に向け、GA 受容体および情報伝達因子 DELLA に着目し、その機能制御剤を探索・創製することを目的として展開された。

2 章では初めに化合物の選抜系を構築した。双子葉のモデル植物シロイヌナズナの GA 受容体と DELLA 因子間で生じる GA 依存的な複合体の形成過程について、酵母 two-hybrid 系を用いて再現し、ハイスループット化を施し選抜系として用いた。各種合成化合物を納めた市販ライブラリー約 1 万種から制御剤候補を選抜した結果、約 4%の陽性候補を一次選抜した。増殖のために GA を要求しない対照環境も選抜系に利用し、一次候補の 9 割を偽陽性と判断して除外した結果、45 種(Y01-Y45)まで絞り込みを達成した。酵母に対する阻害効力が比較的強い 13 種を対象に、*in vitro* 試験系による受容体に対する GA 結合阻害能が明瞭な 5 種を選抜した。これらをシロイヌナズナに投与して、種子発芽過程、幼植物体の生長過程いずれも明瞭に阻害する Y13 を見出した。以降は Y13 に焦点を絞り、シロイヌナズナ GA 応答性遺伝子の発現状況を解析した。結果、GA からの信号伝達の抑制を裏付ける発現状況を確認した。また、シロイヌナズナ以外の植物への投与効果も調べ、アブラナ科以外の複数の双子葉植物やイネ・オオムギに対しても矮化効果を認めた。さらに、オオムギ種子を用いて、GA が誘導する α -アミラーゼ遺伝子の発現、液胞化、細胞死の全ての過程を Y13 が明瞭に抑制することを確認した。よって、Y13 は子葉の単複を問わず広範囲の植物の GA 信号伝達過程を網羅的に抑制することが判明した。さらに、シロイヌナズナの各種変異体プールを対象に、Y13 低感受性変異体の選抜を実施した。結果、シロイヌナズナ FOX ラインから 2 系統の候補を選抜した。後代の植物体における各標的遺伝子の発現量は通常と比べ、数十倍かそれ以上に及ぶ過剰な発現状況であることを確認した。両系統の Y13 低感受性を検討したところ、1 系統は発芽過程で、残る 1 系統は幼植物体の生育過程で Y13 低感受性を示した。これらの解析より、GA 信号伝達制御に関わる新因子特定への寄与が期待される。

3 章では、前章で扱わなかった 32 種を対象として評価した。その中で、Y25 は胚軸の生長阻害がほとんど認められないのに対して、根の生長に対する明瞭な阻害効果を持つことを見出した。さらに、花は咲くが種子の形成を著しく阻害することが判明し、器官選択性が認められた。*in vitro* 試験系を用いて、Y25 も Y13 より弱いものの受容体の GA 結合能を阻害することが判明した。Y25 処理個体の花を観察し、雄しべの短化により適正な受粉が行われないことが種子形成不全の主要因と考えられた。GA 受容体の機能欠失型多重変異体の中に雄しべの短化を主要因とする種子形成不全系統が存在することを根拠として、「GA 受容体と DELLA 因子のうち、機能的に花で重要な両分子間の組合せを選択的に Y25 が阻害する」点を実験的に示すことを計画し、そのために Y25 の構造的アナログを有機化学的に調製して種子形成過程、根や胚軸の生長過程に対する阻害活性について比較した。その結果、Y25 と同様に種子形成阻害能を示し、かつ、根の生長阻害活

性の消失により器官選択性が高まった新規化合物3種を創製した。他方、Y25と異なり、胚軸に対する生長阻害活性が新たに付与された化合物も創製した。two-hybrid用酵母を用いてこれらアナログ化合物の投与効果を調べた結果、少なくとも種子形成阻害能が高い化合物群は総じて酵母の生育阻害効果も高く、受容体-DELLA因子間の相互作用がある程度効果的に阻害される傾向が示された。このY25の種子形成阻害作用について、Y25処理個体の花に正常な花粉を人工交配させた場合、正常な種子形成を認めた。よって、雌しべの種子形成能は阻害しないことが判明した。これにより、Y25は現在F1交雑品種の流通が盛んな特に野菜の育種分野において、煩わしい交配作業を劇的に簡略化することにより多大な貢献をもたらす可能性を提示した。

以上のように本研究の展開により、化合物ライブラリーからGA受容体を作用点とする有用な制御剤が選抜され、一つは非常に広範囲な植物種に効力が現れる化合物を、もう一つは器官選択性を持ち、特に種子形成過程を阻害する化合物の発見・創製に到達した。加えて、化学遺伝学への応用を図り、新因子特定に向けた候補遺伝子を2つ見つけた。これらの結果は、GA信号伝達過程における未知因子同定への基盤になると期待され、従来の制御剤では達成し得ない新しい制御方式を提案しており、学術的にも応用的にも寄与するところが多い。よって審査委員一同は、本研究が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。