

論文内容の要旨

申請者氏名 嘉 美 千 歳

植物の赤色光(R)/遠赤色光(FR)光受容体であるフィトクロムは、発色団にフィトクロモビルン(PΦB)を有し、発芽や胚軸の伸長抑制、避陰反応、開花調節、光周性など様々な光応答に関わっている。PΦB 合成酵素を欠失したシロイヌナズナ *hy2* 変異体にフィコシアノビルン (PCB) を合成する酵素遺伝子 *pcyA* を導入することにより、フィトクロム発色団の改変を行った。得られた形質転換シロイヌナズナ PCYA1 は、*hy2* 変異体のもつ胚軸の伸長表現型が相補され、導入したランソウ由来 *pcyA* 遺伝子がプラスチドにおいて機能することがわかった。PCYA1 より抽出したフィトクロムタンパク質の波長吸収スペクトルは、野生型と比較し 15-20nm 短波長側へシフトしており、発色団として PCB 有することが示唆された。またホロフィトクロムの蓄積量および光安定性について調べた結果、PCB を発色団とするフィトクロムの生化学的性質は、吸収波長がシフトすることを除き、基本的に WT 由来のものと変わらなかった。

次に、PCB を発色団とするフィトクロムを有する植物の光に対する生理応答について、WT と比較した。フィトクロムが関与する主な光応答には、胚軸伸長抑制に関わる赤色および遠赤色高照射反応 (R-HIR、FR-HIR)、種子発芽に関わる低光量反応 (LFR)、超低光量反応 (VLFR) が知られている。PCYA1 は、R-HIR および LFR、VLFR に関しては、WT と同様の正常な反応が認められた。一方、FR-HIR に関して、PCYA1 は、WT が最も強く応答する 730nm では応答せず、695nm で最も強い胚軸伸長抑制を示すという短波長側への顕著なスペクトルシフトが観察された。さらに、PCYA1 は日陰回避反応にも欠損があることが示された。これらの研究により、植物フィトクロムは PΦB を発色団とすることにより、巧みに光質および光量の違いを認識していることがわかった。そして、遠赤色光の関わる生理応答を実現し、陸上の環境へ適応したことが示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 嘉 美 千 歳

本研究は、これまで研究室で明らかにされたフィトクロム発色団生合成の知見およびランソウのフィコビルリン生合成の知見を元に、フィトクロム発色団の改変を行っている。これは、生化学的な解析結果を分子遺伝学的に利用したという点で極めてユニークなアプローチである。すなわち、シロイヌナズナの P Φ B シンターゼ欠失変異体 hy2 に、シアノバクテリア (*Synechocystis* sp. PCC6803) の *pcyA* 遺伝子を導入し、フィコシアノビルリン：フェレドキシンオキシドリダクターゼを働くようにさせ、フィコシアノビルリン PCB をフィトクロム発色団にもつ発色団改変形質転換シロイヌナズナの作出するというものである。得られた形質転換体のフィトクロムは、期待通りにホロフィトクロムを形成し、PCB を発色団とする証拠として WT よりも短波長側に波長吸収特性を示した。PCYA1 のホロフィトクロムは WT と同様の蓄積量、光安定性を有していた。このことから、これは、発色団改変を発色団生合成の代謝工学により実現し、野生型の植物とは異なる波長認識特性を示す植物の作出に成功した最初の事例である。

つぎに、フィトクロム発色団の改変の生理応答に関して、様々な光条件における応答を解析している。この実験では、大型スペクトログラフの単色光が有効に活用されており、実験が適切に行われている。その結果、PCYA1 は、FR の認識特性が短波長側へシフトした性質を示すことが明らかとなった。また、避陰反応の結果から、発色団構造に起因する光受容特性と環境適応能力獲得との関係を理解する手がかりが得られた。このことは、PCYA1 がフィトクロム応答の作用機構を研究する新しい研究素材として利用できることを示す。今後、PCYA1 の PCB-phyA、PCB-phyB の作用スペクトルと FR 応答との関係が調べられ、進化の過程で P Φ B の生合成能力獲得が陸上植物にとって不可欠であったことが証明されたと考える。そして、PCYA1 を利用してフィトクロムが関与する光応答の作用機構がさらに明らかにされることを期待する。

以上のように、本論文はフィトクロム発色団の構造に関する重要な生理学的知見が得られており、また、生物の進化を考える上でも貴重な知見を含んでいるもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。