

論文内容の要旨

申請者氏名 上 藤 洋 敬

高等植物の新規アミノ酸トランスポーター様遺伝子について、タンパク質レベルの機能と小孢子形成過程における役割の解明を試みた。

1) テッポウユリの小孢子母細胞で発現する *LIM8* 遺伝子

LIM8 遺伝子はアミノ酸トランスポーター様のタンパク質をコードする。*LIM8* mRNA は小孢子母細胞において減数第一分裂前期の対合期から減数分裂完了時まで蓄積し、*LIM8* タンパク質は減数分裂が完了する前後で著しく蓄積量が増加することを明らかにした。更に、テッポウユリの小孢子母細胞とこれを含む葯において減数分裂完了時の前後で、分枝側鎖アミノ酸であるバリンとロイシンの遊離アミノ酸組成比が著しく上昇することを見いだした。一方、*LIM8* 遺伝子 5' 上流領域とルシフェラーゼコード配列の融合遺伝子を小孢子母細胞と葉へ導入してその活性を測定した結果、*LIM8* プロモーターが小孢子母細胞において特異的に活性化されることを明らかにした。

2) *LIM8* 遺伝子と相同なシロイヌナズナの *AATL1* 遺伝子

AATL1 と命名したシロイヌナズナの *LIM8* 相同遺伝子について、対応する cDNA クローンとゲノミッククローンを単離した。アミノ酸/オーキシントランスポーターファミリーの中で *AATL1* と *LIM8* は新規のサブファミリーを形成している。*AATL1* 遺伝子は花芽で発現しており、融合遺伝子 (*AATL1::GUS*) を導入した形質転換シロイヌナズナでは、*AATL1* プロモーターは花芽においては葯特異的に発現することを明らかにした。以上のことから、*AATL1* と *LIM8* は小孢子形成過程において同様の役割を担っていることが示唆された。カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターと完全長 *AATL1* コード配列の融合遺伝子 (*35S::AATL1*) を導入した形質転換シロイヌナズナではロゼット葉の枚数が増加し、頂芽優性が減少した。更に、*35S::AATL1* 導入植物では葉と花茎において非特異的アミノ酸トランスポーター遺伝子 (*AtAAP2*) の発現が消失していた。*AtAAP2* の発現抑制は、*AATL1* がアミノ酸トランスポーターあるいはアミノ酸センサーとして機能することによって引き起こされると推察した。また、アミノ末端 60 残基を欠失した *AATL1* は同様な表現型を引き起こさないことが判明した。従って、*AATL1* の機能発現にはアミノ末端 60 残基が重要であると考えられた。

論文審査結果の要旨

申請者の氏名 上 藤 洋 敬

申請者は高等植物の新規アミノ酸トランスポーター様遺伝子について、小孢子形成過程における機能と発現制御機構についていくつかの知見を得ている。

具体的には、テッポウユリの *LIM8* 遺伝子はアミノ末端に特徴的な領域を有するアミノ酸トランスポーター様のタンパク質をコードし、小孢子母細胞において減数第一分裂前期の対合期から減数分裂完了時までの期間で発現していることを明らかにしている。また、*LIM8* タンパク質は小孢子母細胞に局在すること、減数分裂が完了する前後で著しく蓄積量が増加することを示している。更に、細胞内所在について、一次構造解析、細胞分画実験、組織免疫染色実験から原形質膜に局在することを示唆している。一方で、*LIM8* 遺伝子が発現する小孢子母細胞とこれを含む葯において遊離アミノ酸含量の時期的な変動様式についても検討し、減数分裂完了時の前後において分枝側鎖アミノ酸の組成比が著しく上昇することを明らかにしている。更に、申請者は *LIM8* 遺伝子の 5' 上流領域を用いてプロモーター活性の検出と定量的な活性測定を行い、*LIM8* プロモーターが小孢子母細胞特異的に活性化することを見いだした。

次に、申請者は *LIM8* 遺伝子と相同性を示すシロイヌナズナの *AATL1* 遺伝子について cDNA クローンとゲノミッククローンを単離し、*AATL1* と *LIM8* はアミノ末端に特徴的な配列を有した新規のアミノ酸トランスポーター様サブファミリーであることや小孢子母細胞を含む花芽で発現することを明らかにしている。更に、申請者は *AATL1* 遺伝子の 5' 上流領域と *GUS* の融合遺伝子がシロイヌナズナの花芽において小孢子形成過程と花粉成熟過程を通して葯特異的に発現することを明らかにし、*AATL1* と *LIM8* は小孢子形成過程において同様の役割を担っていることを指摘した。また、申請者は完全長 *AATL1* の強制発現によってシロイヌナズナの形態が変化すること、非特異的アミノ酸トランスポーター遺伝子 (*AtAAP2*) の発現が抑制されることを明らかにしている。

以上のように、本論文は高等植物の小孢子形成過程で発現するアミノ酸トランスポーター様遺伝子の機能について有用な知見を与えるもので、学術上、応用上貢献するところが大きく、本学博士論文としての要件を満たすものであると判断される。