

論文内容の要旨

申請者氏名 玉置 祥二郎

イネにおける開花促進遺伝子 *Hd3a* は、*FT* 遺伝子とアミノ酸レベルで高い相同性を示し、花成促進の機能もまた高く保存されている。*Hd3a* はイネの花成が促進される条件である短日条件で発現が誘導され、*Hd3a* を過剰発現させたイネは早咲き表現型を示すことは明らかとなっているが、詳細な発現解析およびタンパク質については不明な点が多かった。またシロイヌナズナおよびイネなどを用いた分子生物学的な解析が急速に進み、*Hd3a* / *FT* が長年探索され続けた植物の花成を誘導する物質フロリゲンではないかと考えられるようになり、その検証が世界中で進められていた。

本研究では、イネにおける *Hd3a* の発現を詳細に解析した。短日処理を 10 日間行った植物体の葉身、葉鞘、根、基部、茎頂分裂組織における *Hd3a* mRNA の蓄積量を調べたところ、葉でのみ mRNA が検出され、他の組織ではほとんど *Hd3a* mRNA は検出できなかった。より詳細に *Hd3a* の発現部位を調べるために、*GUS* 遺伝子を用いた組織化学染色を行った。*Hd3a* 遺伝子の転写開始コドンから上流約 2Kb を用いて *Hd3a* プロモーター (以下 *Hd3a* と表記)::*GUS* コンストラクトを作製し形質転換体を得た。組織化学染色により *GUS* 遺伝子の発現を確認したところ *GUS* 遺伝子は維管束篩部周辺の発現していることを確認したが、茎頂分裂組織における発現は確認できなかった。

次に *Hd3a* タンパク質の植物内での挙動を確認するため *Hd3a* タンパク質の C 末端に *GFP* タンパク質をつなげたタンパク質を *GUS* 解析にも用いた *Hd3a* プロモーターおよび維管束特異的なプロモーター活性をもつ *rolC*、*RPP16* プロモーターの下流に連結したコンストラクトを作製し形質転換体を得た。維管束特異的に *Hd3a::GFP* を発現させた植物体はどれも早咲き表現型を示した。これらの植物体を用いて茎頂分裂組織における *Hd3a::GFP* タンパク質の蛍光を観察したところ茎頂分裂組織直下の維管束から茎頂分裂組織まで連続した *Hd3a::GFP* タンパク質の蛍光を確認した。このことは、これらの植物体の維管束で発現した *Hd3a::GFP* が茎頂分裂組織近傍の維管束から何らかの方法で茎頂分裂組織まで到達していることを示している。

今回の解析の結果、イネの短日条件下での花成は、短日条件下の葉の維管束組織周辺でのみ発現する *Hd3a* がタンパク質へ翻訳された後維管束を通じて移動し茎頂分裂組織まで到達するという分子メカニズムで誘導されることが明らかとなった。また今回の解析の結果から *Hd3a* / *FT* タンパク質がフロリゲンである可能性が高いことが示された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 玉置 祥二郎

本論文は、短日植物を代表するモデル植物であるイネを材料に開花促進遺伝子 *Hd3a* の機能解析を行ったものである。植物の花成制御の研究は古くから行われており、多くの生理学的研究の結果から植物が共通して持つと考えられている花成を誘導する物質フロリゲンの存在も指摘されている。*Hd3a* はイネの光周性花成制御において機能し、長日植物であるシロイヌナズナの *FT* 遺伝子とアミノ酸レベルで高い相同性を示し花成促進の機能もまた高く保存されていることが明らかとなっている。また近年のシロイヌナズナおよびイネなど植物の用いた分子生物学的な解析の結果から *Hd3a / FT* は長年にわたり謎とされてきた植物の花成を促進する物質フロリゲンではないかと考えられるようになってきていた。

本申請者の研究は、イネにおいて *Hd3a* がどのように制御されているかに着目し遺伝子レベルおよびタンパク質レベルでの解析を行ったものである。イネの花成は短日条件下で *OsGI*, *Hd1*, *Hd3a* と順にシグナルが伝達され *Hd1* が *Hd3a* の発現を誘導することで促進されている。研究では短日条件における *Hd3a* の組織別の発現部位を詳細に解析することで、*Hd3a* がイネの葉の維管束師部周辺でのみ特異的に発現していることを明らかにし、葉の維管束から茎頂分裂組織に花成誘導のシグナルとして伝わっていることを明らかにした。また *Hd3a* タンパク質の C 末側に蛍光タンパク質である GFP をつなげたキメラタンパク質をイネの維管束特異的に発現させその挙動を観察した。維管束特異的に *Hd3a:GFP* タンパク質を発現させた植物体はどれも早咲き表現型を示し、これらの植物体を用いて茎頂分裂組織における *Hd3a:GFP* タンパク質の蛍光を観察したところ茎頂分裂組織直下の維管束から茎頂分裂組織まで連続して *Hd3a:GFP* タンパク質の蛍光が観察された。このことは、*Hd3a* タンパク質が維管束から茎頂分裂組織まで移動していることを強く示唆している。

さらに今回の研究の一連の結果から、*Hd3a / FT* タンパク質がフロリゲンであることを明らかにした。このことは、植物においてこれまで明らかにされていなかった花成を制御する分子レベルでの機構を明らかにし、イネだけでなく植物における花成誘導の分子機構解明を前進させ今後の研究に重要な知見を与えられよう。

以上のように、本論文は、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。