

氏名(本籍)	あき ひろ たか し (東京都) 秋 廣 高 志 (東京都)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 乙 第 2257 号		
学位授与年月日	平成 19 年 2 月 28 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	デンブンプン合成関連酵素遺伝子群の発現調節機構およびデンブンプン合成を制御する環境因子の解明		
主 査	筑波大学教授	理学博士	藤 村 達 人
副 査	筑波大学教授	理学博士	佐 藤 忍
副 査	筑波大学教授	農学博士	宮 崎 均
副 査	筑波大学教授	農学博士	江 面 浩

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

デンブンプンに関する研究はこれまで数多く行われており、代謝経路や合成酵素に関する知見が数多く得られている。しかし、デンブンプン合成のメカニズム、つまりデンブンプン合成が何を契機として開始されるのかといった根本的な問題が未だ解決されていない。そこで、デンブンプン合成を制御する因子を明らかにすること、またその因子によって制御される遺伝子群の発現制御機構を明らかにすることを本研究の目的にした。

デンブンプン合成を制御する因子を明らかにするにあたって、まず環境制御が比較的容易であるイネ培養細胞を用いることとした。加藤ら(1988年)によって、イネ培養細胞中にデンブンプンが蓄積することが報告されていたことから、培地成分にはデンブンプン合成を促進する物質が含まれているものと考えられた。そこで培地中の各種成分の濃度を変えた培地を作製し、デンブンプン合成を促進する成分の探索を行った。その結果、培地中の糖濃度依存的にデンブンプン含量が増加することが明らかとなり、糖がデンブンプン合成を制御する因子であることが明らかとなった。また、植物ホルモン ABA によってもデンブンプン合成が促進されることが明らかとなった。興味深いことに ABA 単独ではデンブンプン合成は促進されずその効果はショ糖と協調的であった。

糖と ABA がデンブンプン合成を制御する因子であることが明らかとなったので、続いてこれらの因子によって発現が制御されるデンブンプン合成関連酵素遺伝子を探索することとした。22種類のデンブンプン合成関連酵素遺伝子の発現を解析したところ、糖濃度依存的に発現が制御されていたのは、AGPase 大サブユニットの一つである OsAGPL3 だけであった。また、OsAGPL3 の発現はショ糖と ABA によって協調的に制御されており、培養細胞におけるデンブンプン合成の律速となっている可能性が推察された。OsAGPL3 の登熟種子中での発現様式を調べたところ、OsAGPL3 の発現は開花後 4-10 日目(ショ糖と ABA がどちらも存在している時期)に認められた。このことから、登熟種子中においてもショ糖と ABA によって協調的に制御されていることが推察された。アラビドプシスの Apl3 もショ糖と ABA による協調的な制御を受けていることが報告されていることから(Rook et al., 2001)、この制御機構は種の壁を越えて保存されている機構であり、デンブンプン合成を制御する重要なシグナル因子として働いていることが推察された。しかしながらこれまでに、ショ糖と ABA による協調的な制御機構に関する分子メカニズムや生理的な役割については明らかにされていない。そこで、この制御機構の詳細を明らかにすることを目的とし、その第一段階としてショ糖と ABA

によって協調的に発現が制御される遺伝子群の単離を行うこととした。cDNA-AFLP法を用いて、ショ糖とABAによって協調的に発現が制御される遺伝子群の単離を行ったところ、43個の独立クローンを単離することに成功し、そのうち26個の遺伝子についてノーザンブロット分析によりショ糖とABAによって協調的に発現が制御されていることが確認できた。26個の遺伝子のうちデンプン合成に関与すると思われる遺伝子は4つ含まれており、それらの遺伝子の機能から、ショ糖とABAによって細胞質およびプラスチドへの糖の取り込みが上昇すること、また細胞質およびプラスチド型AGPaseの働きが上昇することでデンプン合成が促進されるものと推察された。単離されたその他の遺伝子は低温応答に関与するものやストレスや障害応答に関与するものであった。残念ながら単離した遺伝子群の機能から、ショ糖とABAによる協調的な制御機構のメカニズムや生理的役割を解明するまでには至らなかったが、ショ糖とABAによって協調的に誘導される遺伝子群が単離できたことは、今後この制御機構および生理的役割を明らかにするうえでの大きな手がかりとなると考えられた。

本研究により糖とABAがデンプン合成を制御する因子であることが明らかとなった。また、これらの因子によって制御される遺伝子群の単離にも成功し、デンプン合成の制御機構についてモデルを提唱することができた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、穀物の生産にとって重要な情報である澱粉の蓄積に関する制御機構の解明に挑戦したものである。培養細胞を利用して、糖濃度および植物ホルモンであるABA濃度を調節して、細胞内への澱粉の蓄積を制御する手法を開発し、それを利用して、澱粉合成関連の遺伝子の制御の状況をつぶさに調査した。さらに、その実験系を利用して網羅的に制御されている遺伝子群を調査した。これらの結果から澱粉合成を制御している因子が明らかとなり、また内部で生じている遺伝子発現の様相も明らかとなった。

これらの研究結果はイネの穀粒中での澱粉蓄積のメカニズムに関する重要な知見を与えた。その科学的な新規性および農業利用の面で有用性が極めて高く、審査員が一致してその価値を認めた。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。