【409】

氏　名（本籍）	針金谷（はりがねや）　尚（なお）　人（ひと）（北 海 道）
学 位 の 種 類	博　　士（理　　学）
学 位 記 番 号	博　乙　第　2477　号
学位授与年月日	平成 22 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	**Studies on Repression Mechanism of Embryonic Properties by Polycomb Complex in *Arabidopsis thaliana*** （シロイヌナズナにおけるポリコーム複合体による胚的形質の抑制機構に関する研究）

主　査	筑波大学教授	理学博士	鎌　田　　博
副　査	筑波大学教授	理学博士	白　岩　善　博
副　査	筑波大学教授	理学博士	佐　藤　　忍
副　査	筑波大学准教授	博士（理学）	小　野　道　之

論 文 の 内 容 の 要 旨

モデル植物シロイヌナズナを用いた研究により、高等植物における成長相（胚発生、栄養成長、生殖成長）の移行において、クロマチンリモデリング因子を介したエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が重要な役割を果たすことが示されつつある。最近、クロマチンリモデリング因子の一種であるポリコーム複合体（PcG）構成因子である *CURLY LEAF*（*CLF*）と *SWINGER*（*SWN*）の二重変異体（*clf-50 swn-3*）が、種子発芽後、不定胚に類似した構造体（胚様組織）を形成することが報告された。そこで本研究では、clf-50 swn-3 で見られる胚様組織形成に焦点を当て、その原因を解析することで、クロマチンリモデリング因子、特に PcG による胚発生から栄養成長相への移行の制御機構について新たな知見を得ることを目的とした。

まずはじめに、*clf-50 swn-3* で見られる胚様組織について、形態学的・分子生物学的解析を行った。その結果、胚発生時には形態的異常は見られないものの、胚様組織が肉眼で観察される前の発芽実生においても胚特異的遺伝子群の発現が見られたばかりでなく、種子貯蔵物質として知られているトリアシルグリセロールの特異的染色剤（FatRed7B）処理により、発芽実生全体が染色されたことから、*clf-50 swn-3* で見られる胚様組織は実際に胚的形質を有しており、この胚様組織形成は、胚発生後の発芽実生においても胚的形質が維持されていることが原因であることが示唆された。

次に、さまざまな条件下で *clf-50 swn-3* を成育させ、胚様組織形成に影響が見られる条件を探索した。その結果、従来の類似研究で示唆されていたジベレリンや糖シグナルは *clf-50 swn-3* における胚様組織形成には関与せず、低温（10℃）条件下において胚様組織形成が強く抑制され、胚様組織の代わりに葉様組織が形成されること、この傾向は茎頂部において特に顕著であり、茎頂部からの胚様組織形成は低温処理によって完全に抑制されることが明らかとなった。そこで、この葉様組織形成時の遺伝子発現や胚的形質の発現を、ノーザン解析、レポーター遺伝子を用いた部位特異的発現解析、FatRed7B による染色等で詳細に解析した結果、低温成育条件下では胚特異的遺伝子群の発現が低下して栄養成長相へ移行していること、特に胚様組織形成が完全に抑制される茎頂部で顕著であることが明らかとなった。さらに、低温を含む環境ストレス防

御機構に深く関わるアブシジン酸の処理や低温ストレス防御機構を共有する塩ストレス処理を施した場合、胚様組織形成率に影響が見られないことを示し、低温処理による胚様組織形成抑制が低温ストレスに対する防御機構によって誘起されているのではなく、低温ストレス防御機構とは異なる因子によって誘起されていることを示唆した。そこで、低温処理条件下における胚様組織形成抑制の原因を特定するため、*clf-50 swn-3* をさまざまな条件下で成育させ、低温条件下でも胚様組織が形成される条件を探索した。その結果、低温処理条件下においても、常温下では不定胚形成を誘導できないごく低濃度のオーキシン処理によって胚様組織形成が見られることを明らかにした。さらに、胚様組織形成における生体内オーキシンの関与を明確にするため、常温条件下で発芽・成育させる際に生体内オーキシンの極性移動阻害剤で処理した場合の胚様組織形成を詳細に解析した結果、対照実験と比較し、主根における胚様組織形成率が低下することを明らかにした。このような結果と従来報告されてきた野生型においては低温条件下でオーキシン活性が低下する事実を考え合わせることにより、*clf-50 swn-3* においても、低温条件下でオーキシン活性が低下し、その結果として胚様組織形成が抑制されたことを示唆している。

一方、低温処理によって胚様組織形成が抑制される現象を活用し、常温条件から低温条件に移行させる時期あるいは低温条件から常温条件に移行させる時期をさまざまに変化させることで、胚発生から栄養成長相へと転換される時期を推定した。その結果、種子発芽後実生の子葉展開時に、胚発生から栄養成長相への転換が不可逆的に起こることが明らかとなった。このことから、野生型植物において、クロマチンリモデリング因子、特に PcG による胚発生から栄養成長相への転換、すなわち胚発生関連遺伝子群の不可逆的発現抑制が子葉展開時に引き起こされていることを示した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、モデル植物シロイヌナズナの突然変異体を活用し、胚発生から栄養成長相への移行過程に関与するクロマチンリモデリング因子の一種であるポリコーム複合体（PcG）、特に PcG 複合体構成因子である *CURLY LEAF*（*CLD*）と *SWINGER*（*SWN*）が種子発芽時にどのような機構によって胚発生を抑制するかについて詳細な解析を行った。その結果、*clf-50 swn-3* 二重変異体が常温下では発芽実生上に胚様組織を形成し、この胚様組織形成は低温（10℃）条件下での成育によって強く抑制されること、さらに、低温条件下での低濃度オーキシン処理によって再び胚様組織が形成されること、ならびに、この低温処理を有効に活用することで、胚様組織形成が不可逆的に決定される時期が子葉展開時であること等を示した。このような結果をもとに、CLF/SWN は種子発芽後の子葉展開時に胚発生関連遺伝子群の発現をクロマチンリモデリング機構によって不可逆的に抑制することで栄養成長相への移行を促しており、この抑制が生体内オーキシン活性の上昇の前に起こることが重要であることを世界に先駆けて示唆した。

以上のように、本研究では、高等植物の胚発生から栄養成長相への移行過程に関与することが示唆されていたクロマチンリモデリング機構について、ポリコーム複合体構成因子である *CURLY LEAF* と *SWINGER* が実際にこの過程に関与し、生体内オーキシン活性の上昇の前に胚発生特異的遺伝子群の発現を不可逆的に抑制することで栄養成長相への転換を達成していることを明らかにしており、今後の本分野の発展に大きな貢献をするものと高く評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。