

氏名	江面 健太郎		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 8 5 9 1 号		
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	ジベレリン情報伝達制御遺伝子 <i>SIDELLA</i> によるトマト果実発達の作用機構解明		
主査	筑波大学准教授	博士 (農学)	有泉 亨
副査	筑波大学 教授	博士 (農学)	草野 都
副査	筑波大学 助教	博士 (理学)	矢野 亮一
副査	筑波大学 教授	博士 (農学)	三浦 謙治

論 文 の 要 旨

本学位論文は、果実発達のモデル植物であるトマトにおいて、植物ホルモン・ジベレリン (gibberellic acid, 以下 GA とする) の情報伝達経路の鍵因子である *SIDELLA* 遺伝子の作用機構解明に関する研究である。*SIDELLA* 遺伝子は GA の情報伝達経路を抑制する因子であり、植物で高度に保存される *DELLA* ファミリー遺伝子に属する。この *SIDELLA* タンパク質が生体内に存在する際は、茎の伸長や果実の着果などの生理反応が抑制されるが、葉緑体の発達は促進する。一方、植物細胞が GA を受容すると、*SIDELLA* タンパク質は 26S プロテアソームの経路を介して分解される。すると、茎の伸長や果実の着果は誘導されるが、葉緑体発達は抑制される。このように *DELLA* 遺伝子は GA 反応の中心的な役割を果たすことから、一部のモデル植物で *DELLA* 遺伝子の下流で機能する因子の同定に向けた研究が進められている。しかし、トマトにおいては *SIDELLA* 遺伝子の下流で機能する因子はほとんど同定されていない。

本学位論文は、*SIDELLA* 遺伝子がトマトの果実発達を制御する機構を解明することを目的として、次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析と酵母イーストツーハイブリッド (Y2H) 法により *SIDELLA* 遺伝子の下流因子を同定して、その作用機構について考察したものである。

著者は、第一章では RNA-seq によるトランスクリプトーム解析より、栄養器官 (根、茎、葉など) や他の生殖器官 (雄ずい、がく、花卉) で発現していない、雌ずい特異的発現遺伝子を 108 個同定し、この 108 遺伝子の中で、*SIDELLA* 遺伝子の下流で機能しうる遺伝子の同定を行った。著者は、矮性トマト品種‘マイクロトム’の野生株と同遺伝背景の *sidella* 変異体において、開花時期のトランスクリプトーム解析の発現情報を活用して、着果時に *SIDELLA* 遺伝子に制御される遺伝子を 34 個同定した。この中には、胚珠発達や受精に関連する遺伝子が 20 個含まれていた。このことから、着果時では、*SIDELLA* 遺伝子の下流には胚珠発達や受精を制御する機構が存在する可能性を明示した。

第二章では、まず著者はトマトに 3 つ存在する GA 受容体 *GID1* タンパク質 (*SIGID1ac*, *SIGID1b-1*, *SIGIDb-2*)

と *SIDELLA* タンパク質の相互作用解析を通じて Y2H 法の手法を確立した。

次に、*SIDELLA* タンパク質と直接相互作用する因子を、Y2H スクリーニング法により選抜し、*BELL1-homeodomain* 型転写因子 5 (以下、*SIBLH5* と表記する) を同定した。さらに、著者は *SIBLH5* タンパク質が N 末端領域を介して *SIDELLA* タンパク質と相互作用することを示した。このことから、著者は *SIDELLA* 遺伝子の下流で新規の転写因子 *SIBLH5* 遺伝子が GA 応答制御に関わっている可能性を明らかにした。

第三章では *SIBLH5* 遺伝子の機能を解明することを目的として、同遺伝子を過剰発現するコンストラクトを構築し、‘マイクロトム’へと遺伝子導入を行なった。その結果、*SIBLH5* 遺伝子の発現が低下したコサプレッション (Co-suppression, CS) 系統を得た。この系統は、野生株と比べて濃い緑色の果実を形成しており、この形質は葉緑体数とクロロフィル量の増加に起因することを明らかにした。そこで著者は、この果実緑化の機構の一端を解明するために、野生株と 2 系統の独立な CS 系統の果実から単離した RNA を利用して RNA-seq 解析を行なった。その結果、クロロフィル合成と葉緑体発達に関わる遺伝子群が、野生株に比べて CS 系統で有意に上昇していることを明らかにした。以上より、著者は *SIBLH5* 遺伝子には葉緑体発達やクロロフィル合成経路の遺伝子群を抑制する機能があると推測した。

シロイヌナズナでは *BLH* ファミリー遺伝子は *KNOX* と呼ばれる転写因子ファミリーと相互作用して下流の遺伝子発現を調節することが知られる。そこで、著者は *SIBLH5* タンパク質と *KNOX* タンパク質の相互作用を検証した。トマトに 7 個存在する *KNOX* 遺伝子のうち、クラス 1 *KNOX* 遺伝子に属する *SIKN2* 遺伝子を選抜し、これと *SIBLH5* タンパク質が直接相互作用するかを Y2H 法で解析したところ、両者は相互作用することを明らかにした。*SIKN2* 遺伝子は果実緑化を促進する因子であるため、著者は、*SIKN2* タンパク質と *SIBLH5* タンパク質が相互作用すると、葉緑体発達やクロロフィル合成経路の遺伝子発現が抑制するという新規メカニズムを提唱し、それを考察した。

審 査 の 要 旨

本学位論文により、着果時に *SIDELLA* 遺伝子に制御される 34 個の遺伝子が同定された。この中には胚珠発達や受精に関連する遺伝子が 20 個と多く含まれることから、GA シグナルが胚珠発達や受精制御に関連する可能性を考察した。また、著者は *SIDELLA* タンパク質と直接相互作用する *SIBLH5* タンパク質を同定し、*SIBLH5* 遺伝子が制御する遺伝子群を網羅的に解析した結果、*SIBLH5* 遺伝子は葉緑体発達やクロロフィル合成を負に制御する役割があることを明らかにした。また、*SIBLH5* タンパク質はクロロフィル合成経路を活性化させる *SIKN2* タンパク質と相互作用することから、果実発達初期は *SIKN2* タンパク質の作用で果実の緑化が進み、その後、*SIBLH5* タンパク質と *SIKN2* タンパク質が相互作用することで葉緑体発達やクロロフィル合成が停止するという新規のモデルを提唱するに至った。本論文の成果は、GA シグナルと胚珠発達や受精制御を関連付ける学術的に意義深い研究である。また、*SIDELLA* タンパク質と直接相互作用する因子を同定した最初の研究として高く評価されるものであり、本論文で提唱された果実緑化の新規モデルは独創性と学術的な新規性が極めて高いと判断された。

平成 30 年 1 月 29 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。