

論文内容の要旨

申請者氏名 丸岡孝資

冬の長期の低温を経て春に花成が促進されることを春化という。一方、冬の終わりに短期間の高温で処理すると、春化の効果が失われ、花成が遅延することは脱春化と呼ばれる。この春化と脱春化はシロイヌナズナでは、花成抑制のマスター制御遺伝子 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* 座の抑制的ヒストン修飾 H3K27me3 を介した発現制御が機能していることが知られている。本研究は、ヒストン脱メチル化に着目して、ヒストン脱メチル化酵素 JUMONJI30/32 の春化と脱春化における機能を解析した。 *jmj30/jmj32* 二重変異体では春化が起こりやすくなっており、H3K27me3 の蓄積や *FLC* の発現が早まっていた。これにより、*JMJ30/32* は *FLC* 座において H3K27me3 の蓄積量が増加するタイミングを遅らせることで、春化に対して抑制的に働くことが示唆された。次に、春化の時系列に沿った *JMJ30/32* の発現解析により、*JMJ30* の発現は低温処理により即座に抑制されることを見いだした。一方、*JMJ32* は低温応答性を示さなかったが、内在性の *JMJ30* 発現量は *JMJ32* よりも10倍以上高いことを合わせると、春化の初期段階における *JMJ30* の発現抑制は植物体におけるヒストン脱メチル化活性の低下をもたらすことが予想された。さらに、*JMJ30* のプロモーター領域に、低温制御にかかわる C-REPEAT BINDING FACTORS (CBFs) と LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)/CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1) の結合配列を見出した。また、*cbfs* および *lhy cca1* 変異体の種子では低温による *JMJ30* の発現抑制が十分に起こらなかったことから、春化の初期段階で CBFs および LHY/CCA1 は *JMJ30* プロモーターに直接結合して発現を抑制することが示唆された。このように、本研究により、春化過程におけるヒストン脱メチル化酵素 *JMJ30/32* による春化初期の調節制御機構が解明された。

次に、脱春化に関する解析として、春化処理を施した *jmj30/32* を高温で処理したところ、野生型と同様に脱春化が誘導されることを見出した。そこで脱春化にかかわる新規因子を同定するため、脱春化を制御する新規遺伝子を探索するため *FLC::LUC* によるスクリーニング系を確立した。3日間の高温処理で *FLC* の発現が促進される脱春化亢進変異体を単離するために、15,173系統の M2 個体に対するスクリーニングを行い、最終的に1系統の変異体に絞り込んだ。この変異体を解析したところ、春化応答にはほとんど異常は見られず、脱春化応答が亢進していることが分かった。さらに、変異体の優劣性検定により、脱春化亢進の変異が半優性であることが示唆された。今後、遺伝学的解析を進めることで、脱春化亢進の原因遺伝子を同定し、脱春化で働く *FLC* 座の H3K27me3 の除去機構を明らかになると期待される。

やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 丸 岡 孝 資

本研究は、シロイヌナズナの花成—特に春化と脱春化における *FLC* のエピジェネティック制御—に着目して、ヒストン修飾マークの維持と除去機構を解析した新しい研究である。博士論文は二部構成であり、第一部の仕事で、春化においてこれまで解析されていたポリコム遺伝子による抑制的ヒストン修飾の導入に対して、抑制的マークの除去に働く *JMJ30/32* タンパク質との拮抗的なバランス制御が作用していることを解明した。鍵となる新しいデータは、*jmj30/32* 変異体において、春化が起りやすくなっていること、および *JMJ30* が低温により転写抑制されることである。本内容は論文投稿し、現在リバイズ中である。さらに、春化の過程で *JMJ* の発現抑制が起きること、それには *CBFs* という低温反応のマスター制御因子ファミリーが作用していることを示唆するデータを得た。博士論文の第二部では、脱春化にかかわる未知因子の同定のため、*FLC* の発現を生きた植物体において定量的に解析できる植物体を用いて、大規模な遺伝学的スクリーニング系の条件決めを行った。1日から7日間の高温処理を行うことにより、3日の高温処理は脱春化には十分ではなく、3日以上で植物の成長に悪影響がでない期間での継続的な高温により脱春化が効率的に誘導されることを示した。この3日の高温処理条件で、15,000 を越える変異体ラインのスクリーニングを効率的に行い、脱春化が促進される脱春化亢進変異体の同定に成功した。当該ラインは半優性であったため、遺伝学的解析による遺伝子同定は容易ではなかったが、今後の遺伝学的解析およびゲノム配列の決定により、脱春化亢進の原因遺伝子を同定することにより、脱春化で働く *FLC* 座の *H3K27me3* の除去機構を明らかに出来ると期待される。

本研究は信頼性が高いデータを蓄積することによって、春化過程におけるヒストン脱メチル化酵素による新たな制御機構を示したものである。さらに脱春化における知見は学術上、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。

- やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】