

論文内容の要旨

申請者氏名 廣畑 敦洋

植物における成長相転換である花成はもっとも重要なイベントのひとつであり、多くの研究が行われてきた。花成時期の制御は開花時期の制御や農作物の葉や果実の成長制御にもつながることから、農学の観点からも非常に重要である。シロイヌナズナを用いた過去の研究から、維管束の概日時計が花成ホルモンの産生を介して季節に応じた花成である光周性花成に関わっていることが明らかになっている。さらに、先行研究により、時計遺伝子 *TOC1* を維管束特異的に過剰発現させた2種類の形質転換植物では、維管束の時計機能の阻害の程度に応じてある系統では常に早咲き、もう一つの系統では常に遅咲きを示し、光周性とは別の経路も概日時計制御であることが明らかにされていた。

本論文では、概日時計を利用した花成時期操作の可能性、および、花成時期の予測を目的として、大きく以下の2つについての研究が行われている。

第1章 化合物投与による概日時計を介した花成時期操作

花成ホルモンをコードする *FT* 遺伝子の発現を指標としたケミカルスクリーニングから、葉酸の生合成阻害剤であるスルファニルアミドが同定された。スルファニルアミドを投与すると *FT* 発現量が著しく低下し、花成時期が遅延することが確認された。さらに、RNA-seq 解析により、スルファニルアミド投与によって、概日時計の中心振動体であり *FT* の直接の転写抑制因子として機能する *LUX* が含まれることを見いだしている。スルファニルアミド投与下で発現が変動する遺伝子群と *LUX* の直接の標的遺伝子群に有意な重複がみられること、*lux* 欠損変異体はスルファニルアミド存在下で花成遅延の表現型が緩和することなどから、スルファニルアミドは少なくとも *LUX* の転写制御を介して *FT* の発現を抑制することが示唆された。さらに、ルッコラに対してもスルファニルアミドは効果を示し、花成時期が遅延したことから、アブラナ科に対する効果が議論されている。

以上の結果から、廣畑氏はスルファニルアミドが *LUX* の発現制御を介して *FT* 発現量および花成時期を操作することを明らかにし、少なくともアブラナ科野菜において花成時期を非遺伝子組換えで操作できる可能性を提示している。

第2章 概日時計を介した花成時期の制御

LUX 以外にも *FT* 遺伝子の発現制御に関わることが報告されている概日時計遺伝子は数多くあるものの、それらがどのような関係にあり、最終的な *FT* 発現制御にどの時計遺伝子が真に重要であるのかは不明のままであった。本論文では、2021年までに公表された新規のマイクロアレイおよび未発表データを含む RNA-seq データを用いて、新たに概日リズムを解析するためのデータベースを作成している。このデータベースを用いた解析から、時計遺伝子 *CCA1* と *TOC1* の遺伝子発現量のバランスが花成時期の決定要因である可能性を見出しており、発現量比を人為的に変えた形質転換植物の解析から、概ね矛盾しない結果を報告している。

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 廣畑 敦洋

廣畑氏は植物の概日時計による花芽形成制御に着目した研究を行い、これまで抗真菌薬として用いられてきたスルファニルアミドが時計遺伝子 *LUX* を介して花芽形成を制御しうること、その効果は少なくともシロイヌナズナとルッコラで認められ、アブラナ科植物の花成制御に有効であることを明らかにした。さらに、より網羅的に概日時計が花成に与える影響を明らかにするため、概日リズム解析に特化したデータベースを構築し、その再解析から時計遺伝子 *TOC1* と *CCA1* の量比が重要である可能性を見出し、多数の形質転換植物の作出からこうした可能性を支持する結果を得た。

これらの結果はいずれも高い新規性があり、博士論文のうち、スルファニルアミドによる *LUX* を介した花成制御については *Plant Cell and Physiology* 誌に掲載済みであり、後半部のデータベースについてもすでに一般公開がなされている。論文は概ね丁寧に書かれており、指摘された軽微なミスや追記が必要な箇所も適切に修正がなされており、完成度は高い。

審査委員からは、スルファニルアミドが花成に与える影響の程度が小さいように見えることへの指摘がなされた。また、今回、新たに見つかった時計遺伝子 *LUX* に対する効果にもスルファニルアミドは代謝やメチル化、核酸合成などに影響を与えることから、そうした副次的な影響ではないかとの質問に対し、他の核酸合成阻害剤では同様の効果が見られないことや成長阻害が起こらない濃度範囲で見られる現象であることが回答された。データベースについても、その意義や活用の可能性についての質問がなされた。さらに、データベースから見いだされた概日時計遺伝子の発現量比で花成時期を説明できることが何を意味しているのか、という質問がなされ、*FT* プロモーター上での花成促進と花成抑制の両方向の制御の拮抗的な影響が量比として反映されているのではないかとの回答がなされた。

以上のように、本論文はこれまで報告がなかった概日時計を介した花成の人為制御を目指す基礎研究として学術上、応用上貢献するところが少なくない。また、廣畑氏が作成したデータベースは、今後多くの概日時計研究者が活用できる形で公開されていることから高い公益性を有している。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】