OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	In planta roles of Arabidopsis ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentenyltransferases in cytokinin biosynthesis
Author(s)	宮脇, 香織
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47663
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【2】

氏　　　　　名	宮脇香織（みやわき かおり）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２０６０４　号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 6 月 16 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科生物科学専攻
学　位　論　文　名	*In planta* roles of *Arabidopsis* ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentenyltransferases in cytokinin biosynthesis （高等植物シロイヌナズナのサイトカイニン合成経路における ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素および tRNA イソペンテニル基転移酵素の役割）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　長谷　俊治 （副査） 教　授　米崎　哲朗　　教　授　寺島　一郎　　助教授　柿本　辰男

論　文　内　容　の　要　旨

植物ホルモンサイトカイニンの合成の律速段階はアデニン骨格のイソペンテニル化であると考えられている。シロイヌナズナには、ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素（ATP/ADP-IPT）は７つ存在する（AtIPT1、AtIPT3-8)。これらの酵素の反応産物は、２つの活性型サイトカイニンであるイソペンテニルアデニン（iP）とその側鎖が水酸化された *trans*-ゼアチン（tZ）になると考えられている。一方、*cis*-ゼアチン（cZ）の活性は一般に弱いとされてきたが、近年その役割は見直されている。植物体内で、cZ はイソペンテニル化 tRNA がシス水酸化された後に分解されて生じるという仮説はあったが、実際には証明されていなかった。シロイヌナズナには tRNA のイソペンテニル化酵素（tRNA-IPT）の候補遺伝子は２つ存在する（AtIPT2、9)。

サイトカイニンが植物体内のどこで合成されているかは、サイトカイニンによる植物の形態形成の調節機構を知るうえで重要なことである。そこで *AtIPT* 遺伝子の発現解析を行った。AtIPT1-GUS は根端の木部前駆細胞、腋芽の基部、*AtIPT3-GUS* は維管束系の篩部、AtIPT4-GUS および *AtIPT8-GUS* は未熟種子のカラザ側の胚乳組織、*AtIPT5-GUS* は側根の原基と根端のコルメラ、*AtIPT7::GUS* は根の伸長部の内皮層、若い葉のトライコーム、花粉管の一部に発現がみられた。一方、tRNA-IPT 遺伝子の発現には組織特異性はなく、植物全体で見られた。

植物体内のサイトカイニンの大部分が、ATP/ADP-IPT の関与する反応を通じて合成されるのかどうかはこれらの遺伝子を破壊することでしか証明できない。また、cZ が tRNA-IPT の関与する反応を通じて合成されているのかも不明であった。そこで、各 *AtIPT* 遺伝子破壊株の単離および多重変異株を作成してそれらの解析を行った。栄養器官での発現量の多い *AtIPT* 遺伝子である *atipt3*, *atipt5*, *atipt7* の変異を含む多重変異株において地上部の生長抑制および側根の伸長促進が見られた。これらの表現型はサイトカイニンの添加および *AtIPT3-GFP* 遺伝子の形質転換により回復した。また、これらの変異株の内在のサイトカイニン量を測定したところ、*atipt3* およびその多重変異株において、iP と *tZ* タイプのサイトカイニン量が著しく減少していた。一方、*cZ* タイプのサイトカイニン量は *atipt2* および *atipt9* において著しく減少し、*atipt2 9* 二重変異株ではまったく検出されなかった。

本研究により、植物体内で ATP/ADP-IPT が iP や tZ タイプのサイトカイニン合成において主要な役割を果たしており、tRNA-IPT が cZ タイプのサイトカイニン合成において必須な役割を果たしていることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

学位申請者は、植物体における植物ホルモンの一種であるサイトカイニン合成の部位や制御機構の分子遺伝学的、細胞生物学的研究を、サイカイニンの生合成経路で機能する ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素と tRNA イソペンテニル基転移酵素を対象にして行った。シロイヌナズナのゲノムには７個の ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素遺伝子と、２個の tRNA イソペンテニル基転移酵素遺伝子が存在する。それら遺伝子の発現部位や様態について、組織・器官別の転写産物の解析やレポーター一酵素の発現解析により詳細に検討した。その結果、道管部、師管部、種子、根端成長点、花粉管等に各遺伝子に特異的な発現が認められること、及びいくつかの遺伝子では発現レベルがサイトカイニンにより負の制御を受けていることを見出した。さらに、各々の遺伝子の単独欠損株や系統的に組み合わせた多重欠損株を選別・作出し、ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素はイソペンテニルアデニンタイプと、トランスゼアチンタイプのサイトカイニン合成に中心的な役割を果たしていること、また、tRNA イソペンテニル基転移酵素はシスゼアチンタイプのサイトカイニン合成に必須な役割を果たしていることを明らかにした。これらの発見は、これまで曖昧であったサイトカイニン合成系を明らかにしたものであり、大きな意義がある。また、ATP/ADP イソペンテニル基転移酵素遺伝子の多重破壊株の表現型から、成長におけるサイトカイニンの役割を確認できた。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。