



Title	The role of two-component system in female gametophyte development
Author(s)	辻村, 香織
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58591
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	つじむら きのした かおり 辻村(木下)香織
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 24348 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 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	The role of two-component system in female gametophyte development (雌性配偶体形成における 2 成分制御系の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 柿本 辰男 (副査) 教授 西田 宏記 准教授 高木 慎吾

論文内容の要旨

序論

当研究室では、過剰発現するとシロイヌナズナにサイトカイニン応答を引き起こす *CKI1* が単離されていた。サイトカイニンは植物の発生や成長を制御する重要な植物ホルモンである。*CKI1* がヒスチジンキナーゼをコードしていることから、*CKI1* はサイトカイニン受容体の候補と考えられたが、その本来の機能は未知であった。一方、サイトカイニン低感受性変異体 *cre1* を用いて、ヒスチジンキナーゼである CRE1、AHK2、AHK3 がサイトカイニン受容体として働くことが示された。サイトカイニンが受容体と結合すると、受容体が自己リン酸化し、そのリン酸基が AHPs、type-B ARR_s へと次々に転移する。リン酸化された type-B ARR_s は転写因子として活性化し、type-A ARR_s の転写を活性化するとともに、サイトカイニン応答を引き起こす。サイトカイニンについての様々な解析が行われたが、生殖成長期における研究は進んでいなかった。そこで、サイトカイニン受容体の生殖成長期での機能と、*CKI1* の本来の役割を調べることを目的に研究を行った。

結果と考察

サイトカイニン受容体遺伝子の三重ホモ接合体 (-/-, -/-, -/-) は、二重変異体 (-/-, -/-, +/-) から正しい分離比で得られ、配偶体自身にサイトカイニン受容体は必要ではない事が示されていた。ところが、三重変異体は完全に不稔であること、その原因は、蒴の開裂、花粉の成熟、柱頭の機能に異常があり、大部分の胚珠は雌性配偶体を欠損していることを突き止めた。このことから、親組織である孢子体のサイトカイニン受容体が機能的な配偶体形成に重要であることが明らかになった。

CKI1 が破壊されたシロイヌナズナの雌性配偶体は、形成後期に正常な液胞形成や極核の融合が起こらず細胞死していた。また発現解析により、*CKI1* は、受精前は雌性配偶体、受精後は胚乳に発現することが示唆された。以上のことから *CKI1* は雌性配偶体形成に必要な役割を果たすことが明らかになり胚乳形成にも関与している可能性が考えられた。

次に、*CKI1* からのリン酸転移が type-A ARR の発現を誘導するかを調べた。*ARR9::GUS* は雌性配偶体で発現し、*CKI1* 遺伝子破壊株の胚珠では、その GUS 活性が低下していた。このことは、*CKI1* の働きが 2 成分制御系を介している可能性を示した。

次に、CKI1 の下流で転写因子として働く type-B ARR 候補を見出すことを目的に探索し、*ARR13*、*ARR20*、*ARR21* が雌性配偶体特異的に発現することを見出した。他の type-B ARRs も重複して働いている可能性があるため、優勢抑制モチーフである SRDX を用いて、*ARR20::ARR20-SRDX*、*ARR21::ARR21-SRDX* を導入すると、雌性配偶体形成の初期で発現が止まった。このことは ARR20、ARR21、及びターゲット配列を等しくするそのホモログが雌性配偶体形成の進行に必要なことを示しており、それらが CKI1 の下流で雌性配偶体形成を調節している可能性を示唆している。

論文審査の結果の要旨

植物の生活環は、動物と異なり、2つの世代が交代している。一般に目に付く世代は孢子体世代であり、もう一つは配偶体世代である。雌性配偶体は卵を含む核相 n の 7-8 細胞からなる多細胞体であり、雄性配偶体は、精細胞を核相 n の細胞からなる花粉である。辻村香織は、雌性配偶体の発生におけるリン酸リレー系の役割を知る事を目的として研究を行った。

リン酸リレー系とは、シグナル受容を担うヒスチジンキナーゼが ATP からリン酸基を受け取り、そのリン酸基を下流因子に転移する事によるシグナル伝達系である。多くの場合、リン酸化最終ターゲットは転写因子であり、リン酸リレー系は細胞外環境に応じた転写制御を仲介する。

孢子体における His-Asp リン酸リレー系は、主にヒスチジンキナーゼであるサイトカイニン受容体により開始される。サイトカイニン存在下では、サイトカイニン受容体が ATP からリン酸基を受け取り、そのリン酸基は AHP を経て type-B ARR に転移する。リン酸化された type-B ARR はサイトカイニン応答遺伝子を活性化することにより、最終的には植物の成長を制御している。辻村は、まず、雌性配偶体と雄性配偶体がサイトカイニン受容体遺伝子を欠失していても配偶体は正常に成長するが、サイトカイニン受容体を欠失した植物（シロイヌナズナ）が作る雌性配偶体は初期に発生異常を示す事を示した。つまり、雌性配偶体発生には親植物のサイトカイニン受容体が必要という事を見いだしたのである。

一方、雌性配偶体では CKI1 と呼ばれるヒスチジンキナーゼが存在する。辻村は、雌性配偶体ではサイトカイニン受容体は必要ないが、CKI1 がその発生に必須である事を見だし、発生過程において CKI1 が必要とされるステップを詳細に観察した。さらに、CKI1 からのリン酸転移により活性が調節されると考えられる type-B ARR 群に属する転写因子群を見だし、この転写因子群の機能を抑制すると雌性配偶体形成の初期に発生を停止することを発見した。また、CKI1 は雌性配偶体の発生には必要であるが、孢子体には必要ない事を見いだした。

これらの成果は、植物の孢子体と雌性配偶体では違ったヒスチジンキナーゼにより開始されるリン酸リレー系が、それらの発生に必須である事を示したものであり、植物生理学上、重要な発見である。これらを含む辻村の成果は、学術誌(Plant Signaling and Behavior, PNAS, Science)にて発表された。

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。