



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (理学)
報告番号	乙第1928号
学位記番号	論 第16号
氏名	横山 悠理
授与年月日	令和5年9月25日
学位論文の題名	PHD finger を有するシロイヌナズナの PFP は花芽形成を抑制する PHD type zinc finger protein PFP represses flowering in <i>Arabidopsis thaliana</i>
論文審査担当者	主査： 木藤 新一郎 副査： 湯川 泰, 奥津 光晴, 小島 晶子(中部大学)

学位論文内容要旨 (1/2)

氏名	横山 悠理	提出年月日	令和 5年 7月 28日
主論文名	PHD fingerを有するシロイヌナズナのPFPは花芽形成を抑制する		
<p>本研究では、PHD finger と呼ばれる特異的なドメイン構造を持つシロイヌナズナのPFP (PHD Finger Protein) が、植物に於いてどのような生理的機能を有しているのか解析を行った。PHD finger を有するタンパク質は真核生物に広く存在し、クロマチンの構造変化に伴うエピジェネティックな転写制御に関与することが示唆されている。植物では、配偶子の形成に関与する遺伝子などが報告されている。ただし、それらタンパク質とPFPはPHD finger以外の構造が大きく異なっており、PFPは異なる生理機構に関与していると予想された。</p> <p>まず、PFPが関わる生理機構を推察するため、シロイヌナズナの生長を追ってPFPの遺伝子発現を解析した。その結果、PFPの遺伝子発現は花芽が形成される時期に特異的に低下することが明らかとなった。この結果は、PFPが花芽形成に関与することを示唆した。次に、PFPの発現を人為的に変化させた形質転換シロイヌナズナ (発現抑制系統と過剰発現系統) を作成し、非形質転換体 (コントロール) と共に同一条件下で育成して表現形の違いを観察した。その結果、コントロールと比較してPFPの発現抑制系統では花芽形成が促進され、逆にPFPの過剰発現系統で花芽形成が遅延することが明らかとなった。この結果から、PFPがシロイヌナズナの花芽形成を抑制する働きを持つことが示唆され、先に発現解析の結果と合わせて考えると、PFPは栄養生長期に花芽がするのを抑制している因子であると考えられる。シロイヌナズナでは花芽形成を抑制する因子としてFLC (FLOWERING LOCUS C) が同定されているが、PFPはFLCと構造の類似性がなく、新たな花成抑制因子を同定することに成功した。次にPFPの機構を知るための解析を進めた。まず、PFPのホモログである分裂酵母のMlo2がヒストンH3に結合することが報告されていることから、PFPとヒストンタンパク質との結合解析をプルダウン法で行った。その結果、PFPもヒストンH3と結合する能力を持つことが示唆された。さらにPFPにGFPを融合させたタンパク質をタマネギの表皮細胞で一過的に発現させた結果、PFPは核に局在することが明らかとなった。よって、PFPは核内でヒストンH3と相互作用することで標的遺伝子の発現を調整し、花芽形成を抑制していることが推察できた。次に、PFPの標的遺伝子を明らかにするため、</p>			

様式4 (博士)

学 位 論 文 内 容 要 旨 (2 / 2)

氏 名	横山 悠理	提出年月日	令和 年 月 日
主論文名	植物生理機構におけるシロイヌナズナ PFP の機能解析		
<p>PFP の発現抑制系統と過剰発現系統を使い、シロイヌナズナの花芽形成で中心的な役割を担っている様々な花成制御因子の遺伝子発現を詳細に調べた。その結果、PFP の発現は花成抑制因子 <i>FLC</i> の遺伝子発現を促進させ、逆に花成促進因子 <i>FT</i> の発現を抑制することが明らかとなった。<i>FT</i> は <i>FLC</i> により発現が抑えられることを踏まえると、PFP で <i>FT</i> の発現が抑えられたのは PFP により <i>FLC</i> の発現が誘導されたためと考えられる。</p> <p>以上の結果から、PFP は花成抑制因子である <i>FLC</i> の発現を促進することでシロイヌナズナの花芽形成を抑制する因子であることを明らかにした。</p> <p>FLC is an integrative regulator of flowering in <i>Arabidopsis thaliana</i>. The expression of <i>FLC</i> gene is regulated by epigenetic control via histone modification. Plant homeodomain (PHD) finger is a sequence-specific histone binding motif evolutionary conserved in eukaryotes. It has been known that PHD finger proteins play a significant role as a regulator of epigenetic gene expression. In this study, we investigated the role of an <i>Arabidopsis</i> PHD finger protein homolog, named PFP (PHD Finger Protein). Phenotypic analysis using a loss-of-function line of PFP showed early flowering as compared with the control under long-day condition that promotes flowering, suggesting that PFP is essential in the flowering repression of <i>Arabidopsis</i>. The analyses of major flowering regulatory gene expressions indicated that the expression of floral repressor <i>FLC</i> was decreased, while the one of floral inducer <i>FT</i> was increased in the loss-of-function line. On the contrary, in the transgenic <i>Arabidopsis</i> overexpressing PFP, the flowering time was delayed and the expression pattern of flowering regulatory genes was reversed in which <i>FLC</i> was upregulated and <i>FT</i> was downregulated, suggesting that PFP is sufficient to regulate flowering regulatory genes. Based on these results, we conclude that PFP controls flowering time by suppressing the upstream of major flowering regulatory genes via <i>FLC</i> expression in <i>Arabidopsis</i>.</p>			

(理学研究科)

博士論文審査結果の要旨 ㊦

論文提出日	令和5年7月28日
学位試験日	令和5年8月24日

論文提出者	横山 悠理			
博士論文審査結果				
学位審査委員	主査	木藤 新一郎	副査	湯川 泰、奥津 光晴、小島 晶子 (中部大学)
主論文題目	PHD finger を有するシロイヌナズナの PFP は花芽形成を抑制する			
論文審査の結果の要旨				
<p>本論文で解析している PFP (PHD Finger Protein) は、分裂酵母で単離同定された aHiTAP1 のホモログで、PHD finger と呼ばれるドメイン構造を有している。このドメインは、広く真核生物のタンパク質に保存されており、クロマチンの構造変化に伴うエピジェネティックな転写制御に関わることが示唆されている。しかし、シロイヌナズナをはじめとする植物における解析は進んでおらず、関連する知見は非常に少ない状況にある。</p> <p>そこで本論文では、シロイヌナズナにおける PFP の生理的な役割を明らかにするため、PFP mRNAs と PFP タンパク質の発現と局在について、生育ステージ別および器官別に詳しく調べている。その結果、PFP は発芽直後から根を中心に恒常的に発現しているが、その発現は花芽が形成される栄養成長から生殖成長への移行時期に特異的に低下すること、また PFP はタンパク質に翻訳された後で維管束を通じて根から花芽が形成される基部などに輸送されること等を明らかにしている。それらの結果は、PFP と花芽形成との関連性を強く示唆するため、次に PFP の発現を人為的に変化させた形質転換シロイヌナズナ (過剰発現系統と発現抑制系統) を使い、様々な日長条件で PFP がシロイヌナズナの花芽形成に及ぼす効果を調べている。さらに、シロイヌナズナでは日長をシグナルとする花芽形成の情報伝達経路とその経路で働く多くの因子が明らかになっているため、それら因子と PFP との関連性を発現レベルで詳しく解析している。そして、それら解析結果を踏まえ、本論文では、PFP は花芽形成で重要な役割を担っている FLC の転写を促進し、その作用を介してシロイヌナズナの花芽形成を抑制する新規の因子であると、結論づけている。</p> <p>PFP が FLC の遺伝子発現を制御するしくみについては不明であるが、本論文では、PFP がヒストン H3 と結合する能力を有することや細胞内では核に局在することも明らかにしており、PFP がクロマチンの構造変化を介して FLC の転写制御を行っている可能性についても述べている。</p> <p>これらの結果は、シロイヌナズナの花芽形成を理解する上で新規かつ重要な知見であり、博士論文として評価できる。</p>				