



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the regulation of flowering and senescence in response to carbon/nitrogen nutrient availability in Arabidopsis [an abstract of entire text]
Author(s)	青山, 翔紀
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。【担当：理学部図書室】 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第13165号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70045
Type	doctoral thesis
File Information	Shoki_Aoyama_summary.pdf



学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称 博士 (生命科学) 氏 名 青 山 翔 紀

学 位 論 文 題 名

Studies on the regulation of flowering and senescence in response to carbon/nitrogen nutrient availability in Arabidopsis

(シロイヌナズナにおける C/N 栄養条件に応じた花成・老化制御機構に関する研究)

基幹代謝の根幹となる糖（炭素源：C）と窒素源（N）は、それぞれの絶対量に加え、両者の量的バランス「C/N」が植物の形態形成やライフサイクル転換を制御する重要なシグナルとなる。特に、糖が過剰で窒素分が少ない「高 C/低 N」では、発芽直後の生育が阻害されるなど植物にとってストレスとなることが知られている。C/N 応答の研究は、糖を加えた培地上での発芽後成長に着目して行われてきた。この手法は簡易に顕著な応答が見られるという利点があり、当研究室においてもこの手法を利用して、C/N 応答制御に関わるユビキチンリガーゼ ATL31 を新規に同定し、それを中心とした分子メカニズムの解析が行われてきた。一方で、上記のように進められてきたこれまでの植物 C/N 応答研究には、2つの大きな課題があった。1つは、植物 C/N 応答は発芽後成長に限らず、ライフサイクル通じて重要と考えられているものの、生育後期におけるその実態はほとんど検証されていないこと。もう1つは、本来植物が大気中の CO₂ から合成する糖を、培地に加えて根から与えていることである。そこで本研究では、花成や老化といったより成熟した段階における、より生理学的な植物 C/N 応答の解明を目指し、シロイヌナズナを用いて以下の解析を行った。

1. CO₂/N バランスに応じたシロイヌナズナの老化とこれにおける ATL31 の機能解析

成熟した植物体におけるより生理学的な C/N 応答を解析するため、人工気象器による大気中 CO₂ 濃度の操作と水耕栽培による窒素分量の調節を同時に行い、異なる CO₂/N 条件下でシロイヌナズナの生育実験を行った。その結果、CO₂ 濃度が高かつ N 濃度も高い「高 CO₂/高 N」条件での生育ではバイオマスが増大したが、CO₂ 濃度は高いが N 濃度は低い「高 CO₂/低 N」条件では、他の条件に比べて早い段階で本葉の黄化やアントシアニンの蓄積といった老化の進行が観察された。また、「高 CO₂/低 N」条件で生育した個体では他の条件に比べて糖が多く蓄積し、窒素飢餓に応答する遺伝子や老化関連遺伝子の発現が顕著に上昇していた。

つまり、細胞内が「高 C/低 N」となっていたと言える。さらに、C/N 応答を負に制御するユビキチンリガーゼ *ATL31* の過剰発現体および機能欠損変異体を生育して野生型と比較すると、「高 CO₂/低 N」条件で誘導される老化進行が、*ATL31* 過剰発現体では遅延し、逆に機能欠損変異体ではより顕著になった。これらの結果から、「ユビキチンリガーゼ *ATL31* は成熟葉での C/N シグナル制御を介して葉の老化進行に関与する」ことが示唆された。

2. シロイヌナズナにおける低 N 条件で促進される花成の分子メカニズムの解析

花成は、栄養成長から生殖成長へと相転移する、植物のライフサイクルにおいて重要な現象である。窒素栄養が花成の時期に影響を与えることは農業の現場などで古くから知られていたが、その分子メカニズムの解明はほとんど進んでいない。私は、上記の老化の研究に用いた水耕栽培の実験条件を再検討し、高 C/低 N、もしくは単に低 N 条件下でのシロイヌナズナの生育において、花成の時期が早くなることを見出した。また、リン酸化プロテオーム解析により、花成制御に重要な転写因子 *FBH4* が高 C/低 N ストレスによってリン酸化されることが示唆され、個別解析の結果、低 N ストレスによって *FBH4* がリン酸化されることを明らかにした。さらに、*FBH4* が直接制御する「日周に依存した花成促進経路」の重要因子 *CO* や、そのさらに下流のフロリゲン因子 *FT* の遺伝子発現が、一過的な低 N ストレス処理、および上記の水耕栽培法を用いた恒常的生育実験の低 N 条件において、通常 N 条件に比べて顕著に促進されることも明らかにした。これらの結果から、「低 N 条件では、*FBH4* のリン酸化を介した日周期依存花成促進経路の活性化によって花成が早期化する」可能性が示された。

3. 糖応答制御に関わる新規ユビキチンリガーゼ *ATL15* の機能解析

当研究室で新規に同定した C/N 応答制御因子 *ATL31* は、シロイヌナズナにおいて 91 のメンバーが報告されているユビキチンリガーゼ *ATL* ファミリーに属する。C/N 栄養応答における *ATL* の更なる解明を目指し、オンラインのマイクロアレイデータを用いて C や N に応答して遺伝子発現が変わる *ATL* を探索したところ、*ATL15* の遺伝子発現は糖添加処理によって大きく抑制されることが分かった。また、*ATL15* は実際にユビキチンリガーゼとしての活性を持ち、膜構造（細胞膜および細胞内膜系）に局在することを明らかにした。さらに、*atl15* 機能欠損変異体は培地中の過剰な糖による成長阻害に耐性を示し、逆に *ATL15* 過剰発現体は生育条件に関わらず成長が減衰した。これらの結果から、「*ATL15* は糖に応答した成長制御に関与する膜局在型ユビキチンリガーゼである」ことが示された。