

氏 名	小塚 俊明
学位（専攻分野）	博士（理学）
学位記番号	総研大甲第 885 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 24 日
学位授与の要件	先導科学研究科 生命体科学専攻 学位規則第 6 条第 1 項該当
学位論文題目	Analysis of Individual Mechanisms for Growth of Leaf Blade and Petiole during Photomorphogenesis in <i>Arabidopsis thaliana</i>
論文審査員	主 査 教授 堀内 嵩 助教授 塚谷 裕一 教授 渡辺 正勝 教授 西村 幹夫

## 論文内容の要旨

Analysis of individual mechanisms for growth of leaf blade and petiole during photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*

In many species of dicotyledonous plant, a leaf consists of a leaf blade and a petiole. For adaptation to a neighboring shade condition, leaf-blade expansion is suppressed and petiole elongation is enhanced. In the present study, I examined the roles of photoreceptors, sugar and phytohormones on the differential growth of the leaf blade and petiole in the shade conditions. Under the conditions examined, cell expansion, not cell division, played a major role in the differential leaf growth. The enhanced cell expansion in the leaf blade is associated with an increase in the ploidy level, whereas cell elongation was stimulated in the petiole in dark conditions without an increase in the ploidy level. Analysis of phytochrome, cryptochrome, and phototropin mutants revealed that phytochromes and cryptochromes specifically regulate the growth of the leaf blade and petiole. In addition, examinations of the effects of photo-assimilated sugar and sugar-response mutants on the growth of the leaf blade and petiole revealed that growth promotional effects of sucrose showed differences between leaf blade and petiole and strongly dependent on the light conditions. These results suggest that both the regulation of light signals and the modulation of responses to sugar are important in the control of the differential photomorphogenesis of the leaf blade and petiole.

Next, I showed that the individual pathway regulating petiole photomorphogenesis is different from that of leaf blade. The ROT3 protein is involved in brassinosteroids biosynthesis. The petiole elongation in the *rot3* mutant was strongly inhibited and altered in response to light conditions. In contrast, in leaf-blade expansion, the *rot3* mutant showed almost normal response to light conditions. In the *phyB* deficient background, the long petiole elongation in red light was strongly suppressed by the *rot3* mutation. These results suggest that ROT3 is required for of *phyB*-regulated petiole elongation. On the other hand, the *doc1* mutant has been known as a defect in *BIG*, encoding a calossin-like protein, which is thought to be involved in the polar auxin transport. leaf phenotypes of the *doc1* mutant are similar to those of the *rot3* mutant. Transcriptional analysis showed that the phytochrome-regulated expression of auxin-inducible genes, such as *IAA1*, *IAA3*, *IAA19* and *GH3-5*, showed an organ-specific manner with petioles having higher expression levels than leaf blades. In addition, these trends of *IAAs* and *GH3-5* genes were affected by the *rot3* and the *doc1* mutations. Further analysis of the *rot3doc1* double mutant suggested the genetic interaction between *ROT3* and *DOC1/BIG* genes. These results suggest the genetic mechanism that the phytochrome signals are specifically modulated by the crosstalk of brassinosteroids biosynthesis and auxin transport for controlling the petiole elongation during shade-avoidance response. On the basis of these studies, I proposed a model in which petiole-specific photomorphogenesis is modulated by integrating phytochrome signals and petiole-intrinsic mechanism, such as BRs biosynthesis and polar auxin transport.

## 論文の審査結果の要旨

本論文は、シロイヌナズナを用いて、葉身・葉柄の特異的な伸長制御機構の解析を行ったものであり、特に光環境に対する応答のメカニズムを詳細に解析した成果が報告されている。光環境に対する植物の応答反応は、植物の生活戦略、ことに環境適応の理解の上で重要なポイントであることから、古くから多くの研究の蓄積があるばかりでなく、近年は分子生物学的解析から特に著しい進展が見られる研究分野である。しかし植物の器官として最も形態形成上も光合成活性上も重要な葉については、葉身と葉柄とで光応答反応が異なることは注目されてきたものの、その詳細な解析はなされてこなかった。出願者の小塚俊明氏は、この点に着目し、モデル植物・シロイヌナズナを実験材料に、葉柄・葉身に見られる光環境応答反応を、特に伸長制御の面から解析した。その結果、以下の知見が報告されている。

(1) 葉身・葉柄における光応答伸長反応を解析した結果、葉柄と葉身とでは光応答反応が大きく異なるという従来の知見を確認し、さらに、葉柄の暗所での伸長促進は、胚軸で知られているのとは異なり、核内倍加の変化や細胞分裂を伴わず、細胞伸長に依存することを明らかとした。

(2) 葉の光応答反応は、赤色光および青色光下でそれぞれ特異的なものが見られること、またそれぞれ光受容体の phyB, cry1 cry2 によって感受されることが明らかになった。

(3) 光受容には、上記光受容体を介する経路だけでなく、光合成産物の sucrose を介した経路もあることが判明した。sucrose は暗所で葉身・葉柄共に伸長を促進することも明らかになった。

(4) phyB シグナルがどのように葉身・葉柄に伝わるのかを、分子マーカーを用いて解析した結果、phyB シグナル直下にある *AtHB-2* 遺伝子の mRNA 発現の時間変化は、葉身・葉柄で差がないことが判明した。これは、*AtHB-2* 遺伝子よりも下流で葉柄と養親の成長反応の差が生じることを示唆している。

(5) 葉柄伸長に強い欠損を示す *rot3* 変異体に着目し、葉の光応答反応を解析したところ、葉柄特異的に *BASI* の mRNA 発現低下が認められ、葉柄の光応答伸長反応が見られないことが判明した。*ROT3* 遺伝子はブラシノステロイド合成に重要な遺伝子であることから、葉柄特異的な光応答反応には、ブラシノステロイドの合成制御が関わっていることが示された。

(6) 同様に葉柄伸長に強い欠損を示す *doc1* 変異体を解析した結果、*phyB* 変異による葉柄伸長の促進効果をうち消すことが判明した。

(7) オーキシン誘導性遺伝子群について、end-of-day far red 光処理後によって phyB シグナルをキャンセルした後の、暗所での発現を調べた結果、葉柄で葉身よりも強い発現を示すことが判明した。

(8) *doc1 rot3* 二重変異体の表現型解析から、オーキシン経路とブラシノステロイド経路とは、相互作用して葉柄の光応答反応に関与することが明らかとなった。

以上から、本研究で注目した、葉柄と葉身とで異なる光応答伸長の背景には、光シグナル経路の下流での、葉柄特異的なブラシノステロイド合成系とオーキシン輸送系との相互作用が、重要な要素として浮かび上がった。本論文の内容は、出願者を筆頭著者とする原

著論文1本に加え、出願者を共著者とする原著論文2本として受理・公刊されている。

以上の評価より、本論文の内容は、質・量共に、本課程の博士号に十分に値するものであると判定された。