

## **HY5 プロモーター機能解析から明らかにする青色光受容体クリプトクロムによる植物の低温応答制御機構の解明**

岩手大学大学院連合農学研究科寒冷圏生命システム学専攻 博士後期課程 3年

今井 裕之

本研究では、植物が**低温と青色光シグナルをどのように利用して低温馴化機構を制御するかを理解する**ことを目的とする。多くの温帯性植物は低温を感知し、特定の遺伝子発現を促進し凍結耐性を高める（低温馴化）。この時、低温と光の2つの環境要因の受容は低温感知及び情報伝達制御に極めて重要である。

これまでに申請者は、シロイヌナズナ野生型及び青色光受容体クリプトクロム (CRY) の変異体 (*cry1cry2*) を用いた実験から、低温下において CRY が凍結耐性の増加に重要と報告されている転写因子 *HY5* (Catala et al., 2011) の発現を促進することを見だし、青色光と低温の二つのシグナルが *HY5* 転写制御を介して統合される可能性を示唆した。しかし、*HY5* プロモーター活性に対する青色光や低温の影響、そして、CRY と *HY5* を繋げる転写因子については不明であった。

一方で、常温と低温条件下では *HY5* タンパク質の安定性が異なっている。常温では明期における CRY 等の光受容体が活性化した結果、E3 ユビキチンライゲースである COPI を不活性化させて *HY5* タンパク質を安定化させる (Lau and Deng, 2010) のに対して、低温下では明暗条件に関わらず常に *HY5* タンパク質が安定化する (Catala et al., 2011) ことが示唆されている。

これらのことから、低温下における *HY5* タンパク質の安定化には光よりも温度が重要な役割を果たしていると考えられる。以上を踏まえ、本研究では**低温と青色光による *HY5* を介した低温環境感知機構には *HY5* の転写制御の貢献度が高い**という可能性を *HY5* 転写解析及びタンパク質半定量解析から検証する。

テーマ1：低温と青色光-CRY シグナルによる *HY5* 発現調節の詳細な解析

### **[実験 I]**

青色光-CRY シグナルと低温が *HY5* 発現を増加させることを見いだしたものの、青色光

条件下での凍結耐性増加に *HY5* が本当に関与するかは分かっていなかった。そこでシロイヌナズナ野生型 (Col-0) と *hy5* 変異体を青色光条件下で低温馴化させて凍結耐性を比較した。

### [実験 II]

低温／青色光条件下における *HY5* 遺伝子発現を詳細に調べるために、シロイヌナズナ野生型 (Ler) と *cry1cry2* 変異体を青色光下で継時的に低温馴化させた場合の *HY5* 発現量を調べた。また、*HY5* 発現に関与する *CRY* を同定するために、シロイヌナズナ野生型と *cry1* および *cry2* 変異体を低温馴化させて *HY5* 発現量を測定した。

テーマ 2: 低温馴化において、青色光-CRY シグナルは *HY5* タンパク質の安定化に関与するか調べる

### [実験 III]

*HY5* タンパク質は低温下では常に安定的に存在するか否かを調べるために、シロイヌナズナ野生型と *cry1cry2* を継時的に低温馴化させて *HY5* タンパク質内生量を測定した。

以上の結果を踏まえた上で、*HY5* プロモーターの低温及び青色光応答性を調べるために、*proHY5::LUC* を作成して植物体への導入を試みた。

本発表では結果を詳細に報告するとともに、今後の展開についても紹介したい。