

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 戸 田 陽 介

論 文 題 目

Analysis of nuclear factors regulating root growth under
salinity conditions in rice

(塩 ス ト レ ス 条 件 下 に お け る イ ネ の 根 成 長
制 御 に 関 わ る 核 内 因 子 の 研 究)

論 文 審 査 担 当 者

主 査	名古屋大学准教授	武 田	真
委 員	名古屋大学教授	服 部	束 穂
委 員	名古屋大学教授	森 田	美 代
委 員	名古屋大学准教授	上 口	智 治

陸上植物の根組織は根端のメリステムにおいて分裂してできた細胞が分化することで形成されるが、根の伸長成長は主としてメリステムでの細胞分裂活性と分裂後の細胞の伸長活性の制御によりコントロールされる。根は重力や光、土壌中の栄養や水分含量など、種々の環境要因に応じて方向や成長速度を柔軟に変えながら伸びるが、こうした外環境の感知やその情報伝達には根端が重要な役割を果たすことが知られている。戸田陽介は、イネを研究材料として、塩ストレス環境下において根が伸び続けるのに必要な因子についての研究を行った。特に塩感受性変異体 *rss3* (*rice salt sensitive3*) の解析から、根端ではたらく核内因子について研究を展開し、以下のような研究成果を挙げた。

(1) 根の細胞伸長制御に関わるイネ核内因子 **RSS3** の発見

rss3 変異体は、塩ストレス条件下において、根の成長が著しく阻害される変異体として同定された。戸田陽介は、塩ストレス非存在下でも変異体の根の伸長が野生型よりも抑制されていること、またそれが細胞伸長の抑制に起因することを見出した。一方、塩ストレス存在下では細胞伸長の阻害に加えて、細胞列の乱れや細胞板形成の異常、細胞肥大、根の柔軟性の欠如が起こることを示した。これらのことから、植物の根のもつ基本的な特徴—生育環境に応じた柔軟な伸長—に寄与する因子として **RSS3** を位置づけた。戸田陽介はポジショナルクローニングにより **RSS3** 遺伝子を特定し、**RSS3** タンパク質が植物の R/B タイプの bHLH 型転写因子に保存された活性制御ドメインと類似したアミノ酸配列をもつこと、根端のメリステム領域や隣接する伸長領域で高い発現を示すこと、核内因子として機能することを見出した。これらの結果から、**RSS3** は根端細胞において何らかの因子と相互作用することで細胞伸長の制御に関わると推測した。

(2) ジャスモン酸 (JA) 応答性遺伝子の発現を制御する **JAZ-RSS3-bHLH** 複合体の発見、およびその機能の解明

RSS3 機能の解明のため、戸田陽介は **RSS3** に結合する因子の解析を行い、上述の活性制御ドメインを有さない bHLH 型転写因子 (bHLH089 および bHLH094) と **RSS3** が相互作用することを見出した。また **RSS3** が JA シグナリングに関わる JAZ 因子 (JAZ9 および JAZ11) とも結合することを示した。さらに戸田陽介は、BiFC 法と apFRET 法を組み合

わせることにより、これらの3つの因子が植物細胞の核内で複合体を形成することを発見した。これらの結果をふまえて、RSS3が遺伝子発現調節を仲介する役割をもつと考えた。

このことを検証するため、戸田陽介は、イネプロトプラストを用いた遺伝子の一過的発現系を用いた実験を行なった。まず、RSS3結合性のbHLH094がE-boxと呼ばれるシスエレメントを介した遺伝子の発現に関わることを示した。次に、RSS3とJAZ9の同時発現によって、bHLH094を介した遺伝子発現が抑制されることを示した。こうした抑制はRSS3あるいはJAZ9のみを同時に発現させた場合にはみられないこと、またJAZ因子がMYCタイプのbHLH型転写因子を負に制御することが知られていることなどから、RSS3がJAZ9による負の制御を仲介することで、bHLH094の活性を調節する役割をもつと推察した。

さらに戸田陽介は、マイクロアレイを用いて根端細胞でのRNA発現プロファイルを解析し、*rss3*変異体では一群のJA応答遺伝子の発現が上昇することを見出した。また、*rss3*変異によって多くの塩応答性遺伝子の発現が変化すること、しかしながら塩応答機構そのものにRSS3が直接関与するのではないことを明らかにした。さらにまた、*rss3*変異によって発現が変動する遺伝子に、根の柔軟性に関わる酵素遺伝子群が含まれることを見出した。これらの結果より、RSS3を介した遺伝子の発現制御は、根端細胞の伸長制御のみならず、塩ストレス環境下でも根が生育しつづけるために必要な細胞機能の調節に重要であると考えられた。

戸田陽介は、こうした一連の結果をもとに、JAZ-RSS3-bHLH因子複合体によるJA応答性遺伝子の発現制御メカニズムを新たに提唱した。RSS3がJAに応答した遺伝子発現を適切なレベルに抑える役割をもつことで、より精度の高い環境応答を可能にすると主張した点は特に注目に値する。

以上のように戸田陽介は、植物の環境に応答した根の成長制御ならびに遺伝子発現制御を理解する上でRSS3の機能が重要であることを示した。ストレス環境下での成長を支えるイネ因子についての研究を進める中で、JA応答性遺伝子の抑制的制御の新たなメカニズムを発見したこと、またこの制御が環境に応じた根成長を支えるのに必要であることを明らかにしたことは、植物の環境応答と成長制御との連携を理解する上で新たな視点を与えるものとして高く評価できる。こうした研究成果に

加えて、戸田陽介の学識審査の結果を踏まえ、当審査委員会は本論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認め、合格と判定した。