

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 塩ストレス下で見られる植物の成長抑制と抑制型 MYB3R を介した細胞周期制御

氏名 奥村 徹

論文内容の要旨

好ましくない環境下に置かれた植物は、その刺激に応答した遺伝子発現によりストレス耐性を獲得すると同時に、自身の成長を積極的に抑制することが知られている。このようにして植物はより多くのエネルギーを耐性の獲得のために利用していると考えられている。ストレスによる成長抑制の一因としては、植物の成長を駆動する細胞周期の抑制が予想されるが、それを実現する分子メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。

当研究室では植物の細胞周期、その中でも G2/M 期を制御するような遺伝子の発現制御に着目して研究を行っており、これまでに G2/M 期遺伝子の発現制御に中心的な役割を果たす R1R2R3 型の MYB 転写因子(MYB3R)を同定している。始めにストレスによる細胞周期の抑制に MYB3R 転写因子が関与している可能性について検討を行った。シロイヌナズナには MYB3R をコードする遺伝子が 5 個(MYB3R1-5)存在しており、転写活性化型因子と抑制型因子の両方が知られている。まず、活性化型 MYB3R の変異体を示す特徴的な細胞質分裂の異常を指標にして、特定の環境ストレスが MYB3R を介した細胞周期制御に影響を及ぼすかどうかを検討した。この異常の程度は MYB3R 経路の活性に応じて変化することから、ストレスが MYB3R を通じて細胞周期を制御しているのであれば、この異常はストレスにより促進されることが期待される。種々の環境ストレスの影響を解析したところ、この活性化型 MYB3R 変異体を示す特徴的な表現型が塩ストレスにより促進されることが明らかになった。さらに、この表現型は塩ストレスに曝された野生型植物においても観察されること、そして、抑制型 MYB3R の欠損株ではこの表現型が緩和されることが分かった。また、抑制型 MYB3R の変異は塩ストレスにより引き起こされる葉面積や葉の細胞数の減少、根の伸長阻害、分裂細胞及びメリステムサイズの減少、G2/M 期遺伝子の発現低下等、種々の現象を緩和することができた。これらの結果は、塩ストレスによる成長の抑制メ

カニズムにおいて抑制型 MYB3R が重要な働きをしていることを示している。

塩ストレス下での MYB3R 遺伝子の発現について mRNA 及びタンパク質レベルで解析を行った結果、活性化型 MYB3R ではわずかに発現が低下するのに対して抑制型 MYB3R ではほとんど変化が見られなかった。従って、抑制型 MYB3R の塩ストレス下での働きには、他の因子との相互作用などの翻訳後の制御が重要であると考えられた。このような MYB3R への影響は塩ストレスと MYB3R との間に存在するシグナル伝達機構を介していると予想される。種々の植物ホルモンに関する変異体を用いて解析を行った結果、エチレンの情報伝達に関連する変異が塩ストレス下で見られる細胞質分裂の異常に影響を及ぼすことがわかった。一方で、Achard らの知見(Achard *et al.*, 2006)により、成長抑制因子 DELLA を中心としたエチレンやジベレリン等の種々の植物ホルモンのネットワークが塩ストレス下における成長制御に重要であるということが報告されていたため、エチレンに加えジベレリンや DELLA についても塩ストレス下における細胞質分裂異常に対する影響の検討を行った。その結果、塩ストレスによる細胞質分裂異常は内在性の GA 量の上昇や DELLA の欠失変異によって緩和することが明らかになった。塩ストレス下におけるエチレン及びジベレリン情報伝達系の制御は結果として DELLA タンパクの安定化と蓄積を促すことが知られていたため、次に DELLA タンパクの蓄積を引き起こす薬剤であるパクロブトラゾール(PAC)を処理した植物において細胞質分裂の異常が見られるか検討を行った。その結果、PAC 処理された植物において成長抑制や細胞質分裂の異常を観察することができたが、一方、塩ストレス下で見られた G2/M 期遺伝子の発現低下については PAC 処理だけでは再現することができなかった。従って、PAC 処理による単純な DELLA の蓄積だけでは G2/M 期遺伝子の発現制御は起こらないと考えられ、過去にも報告されている様に(Achard *et al.*, 2008)、塩ストレス特異的な DELLA の遺伝子発現制御機構が存在していると予想される。

これらの結果から、DELLA と G2/M 期遺伝子の制御を行う MYB3R との関連についても塩ストレス下特異的なものである可能性が予想されたが、興味深いことに非ストレス下における DELLA の一般的な機能に対しても MYB3R との関連を示唆する結果が得られた。DELLA は植物の成長抑制の他に、種子の発芽や発達、花成の制御等植物の発達においても働くことが知られており、実際に PAC 処理により DELLA タンパクの蓄積が引き起こされた植物では種子の発芽阻害や花成の遅延、花卉の縮小が観察される。抑制型 MYB3R の変異は PAC 処理により引き起こされる種々の抑制を緩和する作用を有することが分かった。また、DELLA の蓄積を引き起こす変異体や過剰発現体で見られる表現型に対しても抑制型 MYB3R の変異は緩和させることができた。

DNA 結合ドメインを持たない DELLA は、DNA 結合ができる他の転写因子と相互作用することによって遺伝子の転写制御を行っていることが知られており、一方で DELLA と抑制型 MYB3R との間で標的遺伝子の重複も確認されていたため、DELLA と抑制型 MYB3R との相互作用の可能性が予想された。そして、Yeast Two Hybrid

法による解析の結果、DELLA と MYB3R との相互作用が実際に確認された。この結果から、抑制型 MYB3R は DELLA と結合することによって何らかの性質の変化が起きていると予想される。また、一方で DELLA も MYB3R による何らかの影響を受けていると考えられるが、相互作用を介した直接的な影響なのか、例えばフィードバック等による間接的な影響なのかは今後さらに検討する必要がある。

本研究では、塩ストレスに曝された植物で見られる成長の抑制には、細胞周期制御を担う MYB3R 転写因子を介した G2/M 期遺伝子群の転写制御によって実現していることを明らかにした。また、これらの塩ストレスと MYB3R との間には DELLA を中心としたホルモンネットワークが働いていることも示すと同時に、DELLA と MYB3R との相互作用やその機能における関連についても明らかにした。課題は多いが、本研究が発展することによって、ストレス環境に強い作物の開発や、植物生理学上の中心的な課題である植物の環境応答機構の解明、未だ謎が多い DELLA の制御機構の解明に繋がることが期待される。