

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 奥村 徹

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

論文審査担当者

主査 名古屋大学准教授 山篠貴史
委員 名古屋大学教授 藤田祐一
委員 名古屋大学教授 上口美弥子
委員 金沢大学教授 伊藤正樹

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

好ましくない環境下に置かれた植物は、その環境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、植物の成長を駆動する細胞周期の抑制が想定されるが、それを実現する分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。所属研究室では植物の細胞周期、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た研究を行っており、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。シロイヌナズナには MYB3R をコードする遺伝子が 5 個存在しており (MYB3R1-5)、転写活性化型因子と抑制型因子の両方が知られている。本研究では、ストレス下における積極的な成長抑制に、これらの MYB3R による細胞周期抑制が関連している可能性について検討した。

塩ストレス下における抑制型 MYB3R に依存した積極的成長抑制

まず初めに、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した。活性化型 MYB3R の変異体が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 変異体が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示された。また、抑制型 MYB3R の変異により、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、成長抑制に関連する種々の現象が緩和されることが明らかになった。これらの結果から、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 が必須な働きをしていることが示された。

塩ストレス下における MYB3R による細胞周期抑制と植物ホルモンの関与

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 がわずかに発現の低下を示すだけであり、抑制型 MYB3R はほとんど発現の変化を示さなかった。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

別紙 1 - 2

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に媒介されていると予想される。一般に、環境ストレスに対する植物の応答には植物ホルモンのシグナル伝達ネットワークが重要な役割を担っている。塩ストレスと MYB3R の間に植物ホルモンシグナル伝達が介在する可能性について検討するため、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。その結果、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強く影響を及ぼすことが明らかになった。一方で、Achard らの報告(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ことが示されていた。このため、エチレンに加えてジベレリン信号伝達や、それらのホルモンの制御下にある成長抑制因子 DELLA についても、塩ストレス下における細胞質分裂異常に与える影響を解析した。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 タンパク質の安定化と蓄積を促すことが知られていたため、次にジベレリン生合成を阻害し DELLA タンパク質の蓄積を引き起こす化合物、パクロブトラゾール (PAC) を用いて植物に処理を行い、細胞質分裂の異常が見られるかどうか検討を行った。その結果、PAC 処理された植物では成長抑制や細胞質分裂の異常が観察されたが、塩ストレス下で見られたような G2/M 期遺伝子の発現低下は見られなかった。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可能性が考えられた。このように DELLA と MYB3R との機能的な関連は塩ストレス下において特異的に生じている可能性が考えられた。

成長抑制因子 DELLA と MYB3R の関連

上記のように DELLA は塩ストレス特異的に MYB3R と関連して G2/M 期遺伝子の発現を抑制していると考えられた。しかし、その後の一連の研究から、非ストレス下における DELLA の一般的な機能に対しても MYB3R が関連していることが示唆された。DELLA は植物の成長を抑制する働きをもつほか、種子の発芽や発達、花成の制御など、植物のライフサイクルにおける様々な局面で機能することが知られている。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。しかし、抑制型 MYB3R の変異体では、このような PAC 処理により引き起こされる種々の形質を緩和する作用を持つことが分かった。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

別紙 1 - 2

表現型も、抑制型 MYB3R の変異体では緩和されていることを示す結果が得られた。

DNA 結合ドメインを持たない DELLA は、DNA 結合能をもつ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いる。また、ChIP-seq 解析により同定された標的遺伝子を DELLA と抑制型 MYB3R との間で比較すると、それらの間の重複が有意に過剰提示されていたことから、DELLA と抑制型 MYB3R はタンパク質間の相互作用により複合体を形成して機能している可能性が考えられた。そして、酵母ツーハイブリッド法によるタンパク質間相互作用解析の結果、酵母で発現した DELLA と MYB3R が実際に相互作用することが確認された。この結果から、抑制型 MYB3R は DELLA との結合により何らかの質的な変化が生じ、下流の遺伝子に影響している可能性が考えられた。また、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。

上記の通り、奥村徹は、塩ストレスに曝された植物における成長抑制が、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。本論文の主題であるストレスに応答した植物の成長制御は、植物生理学における古くからの重要な研究課題である。当博士学位審査会は、この重要な課題に対して、本論文が具体的なメカニズムの提案を含む重要な知見をもたらしたと認定した。また本研究の結果は、植物ホルモンシグナル伝達と細胞周期制御の新たな関連性の発見に繋がる可能性があり、将来的に植物ホルモン研究分野の発展に貢献することが期待される重要な研究であると評価し、合格と判定した。