

論文内容の要旨

申請者氏名 岩田 雄二

小胞体で合成されたタンパク質は、正しい高次構造を形成した後、小胞輸送により細胞内の目的の場所へ運ばれる。何らかの要因で正しい高次構造の形成が阻害されると、その回避のために BiP に代表される小胞体シャペロン遺伝子等の発現が誘導される。この現象は小胞体ストレス応答と呼ばれ、酵母や動物でその分子機構の研究が進むとともに、小胞体ストレス応答が正常な発達に必要なことも明らかになっている。一方、植物でも、小胞体ストレス応答は見られるが、分子機構、生理機能に不明な点が多い。そこで、申請者（岩田雄二）は、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて主として小胞体ストレス応答の分子機構の解明を目的に研究を行った。

酵母や動物の小胞体ストレス応答では、bZIP 型の転写因子が重要な役割を果たす。植物でも同様に bZIP 型の転写因子が関わりと予測し、シロイヌナズナのゲノムにコードされる 75 個の bZIP タンパク質遺伝子について発現解析を行った。その結果、小胞体ストレス応答を引き起こすツニカマイシン（糖鎖合成阻害剤）処理により、転写誘導される遺伝子 AtbZIP60 を同定した。

AtbZIP60 の一次配列には C 末端側に膜貫通領域と考えられる構造が見られる。膜貫通領域を欠失した領域 (AtbZIP60 Δ C) と GFP の融合タンパク質は核に局在した。従って、AtbZIP60 は膜タンパク質として合成され、タンパク質レベルで切断されて、核へ移行して転写因子として機能する可能性が示唆された。

続いてシロイヌナズナに存在する 3 個の BiP 遺伝子のプロモーターを用いたレポーターアッセイにより、AtbZIP60 Δ C が全ての BiP プロモーターを、シス配列 (P-UPRE あるいは ERSE) を介して活性化することを示した。全長の AtbZIP60 は活性化に影響を与えなかったことから、タンパク質レベルでの切断が活性化に必須であることが示された。また、AtbZIP60 Δ C は、AtbZIP60 プロモーターに存在する ERSE 様の配列を介して、自身の遺伝子発現も活性化した。以上のことから、小胞体ストレスのシグナルを増幅する植物特有の分子機構が存在することが示された。

続いて T-DNA 挿入による AtbZIP60 遺伝子破壊株を単離したが、通常の生育条件下では、特に生育に影響は見られなかった。次に、野生型と遺伝子破壊株の遺伝子発現をマイクロアレイ解析によって調べた。野生型では約 21,000 遺伝子のうち 133 個のシグナルがツニカマイシン処理で 3 倍以上に増加した。そのうち 34 個は遺伝子破壊株で 2 分の 1 以下に抑制されていたが、抑制の見られない遺伝子も存在した。以上のことから、AtbZIP60 は小胞体ストレス応答の情報伝達に関与するが、AtbZIP60 の関与しない情報伝達系が存在する事も明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 岩田 雄二

小胞体ストレス応答は、酵母や動物でそのユニークな分子機構が詳しく解析されている。哺乳動物では正常な発達に必要であり、精神性疾患との関連なども指摘されている。一方、植物では分子機構、生理機能に関して不明な点が多いことから、申請者は、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて情報伝達機構に関する知見を得るための研究をおこなった。具体的には新規転写因子 AtbZIP60 の単離と機能解析が論文の主たる内容である。

AtbZIP60 の単離は、酵母、動物で bZIP 型転写因子が小胞体ストレス応答に関与することから、植物でも bZIP 型転写因子が関与するという想定のもとに、ゲノム解読が完了しているシロイヌナズナの 75 個の候補遺伝子を RT-PCR によりスクリーニングすることでおこなった。その結果、転写レベルで誘導を受ける遺伝子として AtbZIP60 が得られた。AtbZIP60 タンパク質は膜貫通領域を持つと予想された。動物の小胞体ストレス応答で重要な役割を果たす ATF6 がやはり膜タンパク質であり、タンパク質レベルでの切断を受けて核へ移行し、機能するという知見をもとに、同様の機構を想定し、膜貫通領域を除いたタンパク質 AtbZIP60 Δ C が核へ局在する事、BiP とカルネキシンのプロモーターを活性化することを、トランジェントアッセイ系で示した。また全長 AtbZIP60 は活性化に影響を与えなかったことから、活性化はタンパク質レベルでの切断によって制御されることを示唆した。以上の、遺伝子の同定、タンパク質レベルでの切断による制御は、他生物で知られているアナロジーを利用することによって得られたものであるが、結果的には AtbZIP60 と ATF6 の間には配列上の相同性が見られないこと、タンパク質の大きさが大きく異なること、また ATF6 は転写レベルでの誘導は受けないなど、AtbZIP60 が植物に特徴的な新規な分子であることが明らかとなった。また、AtbZIP60 が自身の遺伝子発現も活性化することが示された。このシグナルを増幅する分子機構も植物特有である。さらに遺伝子破壊株のマイクロアレイ解析より、AtbZIP60 が小胞体ストレス応答における遺伝子発現に重要な役割を担っていることが裏付けられた。一方で、AtbZIP60 が関与しない情報伝達経路の存在も明らかとなり、植物における小胞体ストレス応答の情報伝達系の多重性、複雑さも示された。また、BiP を初めとするシャペロン遺伝子以外にも多くの転写因子が小胞体ストレス応答により誘導される事も明らかとなった。

以上のように、本論文はこれまで不明であった植物の小胞体ストレス応答の分子機構の解明に関して注目すべき成果であり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。