

論文内容の要旨

申請者氏名 荻田 伸夫

動物では、DNA に損傷が起きるとセンサーキナーゼである ATAXIA-TELANGIECTASIA MUTATED (ATM) および ATM AND RAD3-RELATED (ATR) が損傷 DNA を感知し、その下流で転写因子 p53 が活性化することで、DNA 損傷応答に関わる様々な遺伝子の発現を誘導することが知られている。一方、植物は p53 のオルソログを持っておらず、その代わりに植物特異的な NAC 型転写因子 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 (SOG1) が機能することで、細胞周期停止や DNA 修復・組換え、幹細胞死などの応答を引き起こしていることが知られている。しかし、SOG1 が DNA 損傷に応答してどのような因子を転写制御しているのかは、これまで明らかにされていなかった。

申請者は、*sog1* 変異体を使ったマイクロアレイ解析、および当研究室で以前行われた SOG1 の ChIP-seq 解析の結果から、146 個の SOG1 標的遺伝子を同定した。p53 の標的遺伝子と比較したところ、SOG1 は p53 と同様に、細胞周期進行の抑制に関わる複数の遺伝子を標的とし、細胞周期チェックポイント機構に直接関与していることが示唆された。一方で、SOG1 は相同組換えによる DNA 修復や、病原菌感染応答に関わる遺伝子も標的としていることから、p53 とは異なる機能を有していることが明らかになった。また、SOG1 は ATM および ATR によりリン酸化されて活性化されるが、このリン酸化が標的遺伝子のプロモーターへの結合に必須であることも見出した。そこで、標的遺伝子のプロモーター配列情報から結合部位を同定したところ、SOG1 は CTT(N)₂AAG 配列に結合し、*in vitro* および *in vivo* において標的遺伝子の発現を誘導することが明らかになった。次に、SOG1 は病原菌感染応答に関わる遺伝子を標的としていたことから、病原菌に対する防御反応における役割について検討した。その結果、*sog1* 変異体は野生型植物に比べて、アブラナ科炭疽病菌 *Colletotrichum higginsianum* に対して高い罹病性を示すことを見出した。最近の研究で、病原菌感染により植物細胞内で DNA 損傷が生じることが報告されていることから、SOG1 を介した DNA 損傷シグナル伝達経路が病原菌に対する防御反応において機能している可能性が示唆された。

申請者は、SOG1 の標的遺伝子の中に、SOG1 と近縁の NAC 型転写因子 ANAC044 および ANAC085 をコードする遺伝子が含まれていることを見出した。*anac044* および *anac085* 変異体の表現型解析から、これらが DNA 損傷に応答した細胞周期停止や幹細胞死の誘導に関与していることを明らかにした。さらに、変異体を用いたマイクロアレイ解析により、ANAC044 および ANAC085 により制御される下流遺伝子を同定したところ、SOG1 により発現制御される遺伝子の約 30% が ANAC044 および ANAC085 により転写制御されていることを発見した。これらの結果から、ANAC044 および ANAC085 は、SOG1 を介して細胞周期の停止や幹細胞死を誘導する際に鍵を握る転写因子であることが示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 荻田 伸夫

DNA は内的・外的要因により常に損傷を受けているが、生物は DNA 損傷に対する応答機構を働かせることで、ゲノムの恒常性を維持している。動物では、センサーキナーゼである ATAXIA-TELANGIECTASIA MUTATED (ATM) および ATM AND RAD3-RELATED (ATR) が損傷 DNA を感知した後、その下流で転写因子 p53 が働くことで、細胞周期の停止や細胞死などを引き起こす。一方で、植物は p53 のオルソログを持っておらず、その代わりに植物特異的な NAC 型転写因子 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 (SOG1) が働くことで、様々な DNA 損傷応答を引き起こしていることが知られている。しかし、SOG1 がどのような遺伝子を転写制御することで応答反応を引き起こしているかは不明な点が多かった。

申請者は、マイクロアレイ解析、および当研究室で以前行われた ChIP-seq 解析の結果から、146 個の SOG1 標的遺伝子を同定した。そして、p53 の標的遺伝子と比較解析を行い、これらの因子はいずれも細胞周期進行を阻害する因子の転写制御に関与していることを明らかにした。一方で、SOG1 は相同組換えによる DNA 修復や病原菌感染応答に関わる遺伝子も標的とすることを発見した。そこで、*sog1* 変異体を用いてアブラナ科炭疽病菌 *Colletotrichum higginsianum* に対する感受性試験を行ったところ、SOG1 は病原菌に対する防御反応に機能していることが明らかになった。これは、病原菌感染に対する応答に、植物が SOG1 を介した DNA 損傷シグナル伝達系を利用していることを示す、重要な発見である。申請者はさらに、SOG1 が ATM および ATR によりリン酸化されると、標的遺伝子の CTT(N)₇AAG 配列に結合することを明らかにした。また、実際に *in vivo* においても SOG1 はこの配列に結合して、標的遺伝子の転写誘導を行っていることを示した。

SOG1 の標的遺伝子の中には、SOG1 と相同性が高い NAC 型転写因子 ANAC044 および ANAC085 をコードする遺伝子も含まれていた。そこで、申請者はこれらの機能解析を進めたところ、ANAC044 および ANAC085 は DNA 損傷に応答した細胞周期停止や幹細胞死の誘導に関与していること、また SOG1 が制御する遺伝子群の中の約 30% にあたる遺伝子の発現を制御していることが明らかになった。以上の結果は、ANAC044 および ANAC085 が DNA 損傷に応答した細胞周期制御において中心的役割を果たしていることを示唆するものであり、DNA 損傷チェックポイント機構の理解に向けて、重要な鍵因子の同定に成功したと言える。

以上のように、本論文は SOG1 を介した DNA 損傷シグナル伝達機構を分子レベルで明らかにしただけでなく、植物の細胞周期チェックポイントを制御する鍵因子に関して重要な知見を提供するもので、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。