

論文内容の要旨

申請者氏名 平井理作

被子植物がもつ道管は二次壁を持った死細胞からなり、水の輸送を担う重要な組織であり、その分化は NAC 転写因子 VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN (VND) ファミリー (VND1~7) によって制御されている。この制御は、病原菌感染や塩ストレスなどの環境因子によって影響され、環境要因の変化で異所的な道管細胞分化が起こること、VND7 の転写活性が細胞内レドックス状態の影響を受けることが知られている。そこで本研究では、VND 活性調節による道管細胞分化制御の解明を目指して、「VND 活性レベルが道管細胞分化の転写制御ネットワークに与える影響の解析」と「VND 活性調節に寄与する細胞ストレスの探索とその作用機序の解析」を行った。

実験材料としては、DEX 処理によって、VND7 活性が誘導され、全身的に道管細胞分化が起こる VND7-VP16-GR 植物体を使用した。まず、VND7-VP16-GR に DEX 濃度を変えて処理し、プログラム細胞死の指標としてのクロロフィル量の変化と子葉総面積当たりの二次壁形成率の変化を計測した。その結果、低濃度の DEX 処理は二次壁形成を弱く誘導する一方で、プログラム細胞死は誘導しないことがわかった。下流遺伝子の発現誘導のタイミングは DEX 濃度の低下に伴って遅くなり、発現ピークは有意に低くなることも明らかとなった。これらの結果から、道管細胞分化の進行は低濃度 DEX 処理時には遅くなること示された。次に、道管細胞分化に影響を与える細胞ストレス誘導剤の同定を行った。その結果、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の活性阻害剤 TSA および Sirtinol が VND7 による道管細胞分化を抑制することを明らかにした。これらについて詳細解析を行ったところ、TSA および Sirtinol 添加によって、多くの VND7 下流遺伝子の発現が低下すること、この発現低下に *MYB75*、*OVATE FAMILY PROTEIN1 (OFP1)*、*OFP4* が関与する可能性が示された。さらに、これらと転写抑制複合体を形成する *KNAT7* の役割を調べたところ、*knat7-1* 変異体では TSA による道管細胞分化抑制が有意に緩和されており、HDAC 阻害による道管細胞分化阻害には *KNAT7* が関与していることを示した。これらの結果から、HDAC 阻害は、*KNAT7* を含む転写抑制複合体の基礎活性を上昇させることで VND7 活性に影響し、以降の転写制御ネットワークおよび道管細胞分化プロセスを調節することが示唆された。

以上、本研究から、VND タンパク質は、道管細胞分化の誘導開始スイッチであるだけでなく、転写活性依存的に下流遺伝子発現のタイミングとレベルを制御する「道管細胞分化プロセス調節因子でもある」こと、「植物は HDAC による VND7 活性制御を通して、環境に適した道管形成を実現している」という新規の植物環境応答戦略を示唆することに成功した。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 平 井 理 作

道管は水の輸送を担う重要な組織であり、NAC 転写因子 VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN (VND) ファミリー (VND1~7) によって制御されている。近年、VND7 による道管細胞分化制御が病原菌感染や塩ストレスなどの環境要因によって影響を受けている可能性が示されてきた。しかしながら、この分子メカニズムの理解は十分ではなかった。そこで申請者は、VND 活性調節による道管細胞分化制御の解明を目指して、VND 活性の調節に関する解析を行い、以下に示す知見を得た。

1) VND7 活性レベルが転写制御ネットワークに与える影響の解析

DEX 処理によって VND7 活性が誘導され、全身的に道管細胞分化が起こる VND7-VP16-GR 植物体を用いて、道管分化の指標となるプログラム細胞死と二次壁形成に対する VND 活性の依存性を解析した。その結果、低濃度の DEX 処理は二次壁形成を弱く誘導する一方で、プログラム細胞死は誘導しないこと、下流遺伝子の発現誘導は DEX 濃度の低下に伴って遅くなり、発現ピークは有意に低くなること、を明らかにし、VND タンパク質が、道管細胞分化の誘導開始スイッチであるだけでなく、転写活性依存的に下流遺伝子発現のタイミングとレベルを制御する、道管細胞分化プロセス調節因子でもあることを示唆した。

2) VND7 活性調節に寄与する細胞ストレスの探索とその作用機序の解析

道管細胞分化に影響を与える細胞ストレス誘導剤の同定を行い、新たにヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の活性阻害剤 TSA および Sirtinol が VND7 による道管細胞分化を抑制することを明らかにした。このとき、多くの VND7 下流遺伝子の発現が低下すること、TSA 処理によって *MYB75* と *OVATE FAMILY PROTEIN1 (OFP1)* の発現が、Sirtinol によって *OFP4* の発現が上昇することから、*MYB75*、*OFP1* および *OFP4* を含む転写抑制複合体の関与を示した。さらに、この転写抑制複合体に含まれる *KNAT7* 機能を調べたところ、*knat7-1* 変異体では TSA による道管細胞分化抑制が有意に緩和された。これらの結果は、HDAC 阻害が、*KNAT7* を含む転写抑制複合体の基礎活性を上昇させることで VND7 活性に影響し、以降の転写制御ネットワークおよび道管細胞分化プロセスを調節することを示唆している。

以上、本研究では、VND7 活性レベルが道管細胞分化の進行調節の重要な要素であることを実験的に示し、さらに VND7 活性制御因子として新たに HDAC を同定することに成功した。

以上のように、本論文は道管細胞分化に関わる分子機構解明の一助となるもので、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。

やむを得ない事由 [図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】