

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	重田 友明
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 杉元 康志
	副査 鹿児島大学 准教授 岡本 繁久
	副査 佐賀大学 教授 穴井 豊昭
	副査 佐賀大学 教授 鈴木 章弘
	副査 鹿児島大学 教授 岩井 久
審査協力者	鹿児島大学 名誉教授 松尾 友明
題目	<p>植物ホルモン・ブラシノステロイドによる遺伝子発現調節機構に関する生化学的解析</p> <p>(Biochemical analysis of the mechanism for regulation of brassinosteroid-responsive gene expression in <i>Arabidopsis</i> cultured cells)</p>
<p>植物ホルモンは植物の生理機能を理解する上で重要な研究対象であり、農業分野に広く応用されている。最近の研究では分子生物学手法を用いた情報伝達機構の解明が進んでおり、多くの植物ホルモンの作用機序が明らかになっている。ブラシノステロイド (BR) は極めて低い濃度で植物の様々な成長や分化に影響する植物ホルモンであり、花成、枝の分岐数、植物の背丈、バイオマスや種子の収量、生物学的及び非生物学的ストレスに対する抵抗性などに関わり、農業分野において、重要な要素となっている。BRの情報伝達に関する研究ではシロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究によって進められおり、情報伝達機構と制御が解明されつつある。細胞膜上に局在するBRI1受容体にBRが結合することにより、下流にあるBR情報伝達因子が活性化され、核にシグナルが伝達され、2種の転写因子のBES1とBZR1を介して、BR情報伝達の標的である数百の遺伝子が活性化または抑制され、BRの効果が示される。</p>	

本研究は BR の多様な情報伝達の分子機構を生化学的に解明することを目的とし、シロイヌナズナ T87 培養細胞を用いて BR 応答核タンパク質の網羅的解析を行った。二次元電気泳動のより、551 種のタンパク質スポットを検出し、その中で、16 種は BR 濃度に応じて発現量が増加する一方、55 種は減少することを観察した。さらに LC-MS/MS 解析によって 11 種の核タンパク質を含む 44 種の BR 応答性タンパク質を同定した。解析の結果、BR により NAP1;2、SAM syn.2、HD2B は発現量が増大するタンパク質であり、NAP1;1 と VIP3 は抑制されるタンパク質であることを確認した。また、5 つの核タンパク質はクロマチンリモデリングに関与するものであり、BR の情報伝達を介したクロマチン構造の変化がその後の遺伝子発現にとって重要であることを示唆した。

次に、BR 情報伝達経路で働く転写因子 BES1 の抗体を使った免疫沈降により、相互作用分子の探索を行った。その結果、分子シャペロン HSP90 が同定され、BES1 は HSP90 と協調してシグナル伝達に関与すると推察した。さらに、内在性 BR 量の増加により、BES1 と HSP90 の分子間相互作用だけではなく、480 kDa 以上の分子量を持つ HSP90 複合体を形成することが確認された。この複合体の形成は、HSP90 の ATPase 阻害剤であるゲルダナマイシンによって、阻害された。さらに、ゲルダナマイシンは BR 生合成遺伝子である CPD と DWF4 のフィードバック発現抑制を減衰させた。これらのことより、BES1 と HSP90 の分子間相互作用が BR の情報伝達に深く関わり、さらに内在性 BR 量の調節に重要な役割を果たしていると推察した。

以上、BR の情報伝達の解明を目的とした本研究は、BR によるクロマチンリモデリングと BR 情報伝達に重要な転写因子 BES1 と HSP90 のシャペロン活性が BR による遺伝子発現制御に重要であると結論した。

以上のように、本論文は植物ホルモン BR による情報伝達機構と遺伝子発現を追究し、クロマチンリモデリングや転写因子 BES1 と協調する HSP90 の同定など重要な知見を得ることが出来た。本研究は植物分子生物学に貢献し、農学の分野において重要な情報を提供することになった。したがって、本論文は学位論文として十分に価値のあるものと判定した。