



Title	植物の核小体ストレス応答におけるANAC082転写因子の機能と発現制御に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	佐々木, 駿
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第15295号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/89490">http://hdl.handle.net/2115/89490</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Sasaki_Shun_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学） 氏名 佐々木 駿

審査担当者 主査 教授 尾之内 均  
副査 教授 藤野 介 延  
副査 准教授 高須賀 太一（国際食資源学院）

## 学位論文題名

植物の核小体ストレス応答における ANAC082 転写因子の機能と発現制御に関する研究

本論文は、和文 60 頁、図 14、表 5、4 章からなり、参考論文 4 編が添えられている。

核小体とは真核生物の核内に存在する構造体であり、その内部ではリボソームの生合成が行われている。リボソームの生合成は細胞に対する様々なストレスによって阻害され、リボソームの生合成異常を感知した細胞は細胞増殖の抑制やアポトーシスを引き起こす。そのようなリボソームの生合成異常に伴うストレス応答は、核小体ストレス応答と呼ばれる。植物では、核小体ストレス応答において中心的な役割を果たす転写因子として、NAC ドメインをもつ ANAC082 がシロイヌナズナから同定された。ANAC082 は核小体ストレスに応答して発現が誘導され細胞増殖を抑制する機能を持つことが報告されていたが、その発現制御機構と細胞増殖抑制機構は明らかにされていなかった。

本研究では、核小体ストレスに応答した ANAC082 の発現制御機構の解析と、ANAC082 の下流で細胞増殖抑制に関与する因子の探索を行った。

### 1. ANAC082 の核小体ストレスに応答した発現制御機構の解析

シロイヌナズナの ANAC082 遺伝子の 5' 非翻訳領域には 37 アミノ酸をコードする上流 ORF (uORF) が存在し、この uORF のアミノ酸配列は被子植物において高度に保存されている。この uORF にコードされるペプチドは ANAC082 の発現を抑制することがこれまでに報告されている。本研究では、核小体ストレスに応答した ANAC082 の発現制御にこの uORF が関与する可能性を検証した。そのために、ANAC082 遺伝子のプロモーターと 5' 非翻訳領域の下流につないだルシフェラーゼ遺伝子を持つレポーター植物を核小体ストレスを引き起こす薬剤で処理したところ、アクチノマイシン D 処理により、uORF 配列依存的にルシフェラーゼ遺伝子の発現が上昇した。また、アミノ酸合成阻害剤であるクロロスルフロンでレポーター植物を処理した場合にも、ルシフェラーゼ遺伝子の発現上昇がみられた。これらの結果から、ANAC082 mRNA の uORF は非ストレス条件では ANAC082 の発現を抑制し、核小体ストレスが生じると uORF による発現抑制が緩和さ

れて ANAC082 の発現が誘導されることが示された。

## 2. ANAC082 が転写および翻訳に与える影響の検討

ANAC082 の機能欠損変異は核小体ストレスによる細胞増殖抑制を抑圧し、ANAC082 の過剰発現は植物の生育を抑制することから、転写因子としての ANAC082 の機能は細胞増殖の抑制であると考えられる。その機構を明らかにするために、RNA シークエンス解析ならびにリボソームプロファイリング解析により、シロイヌナズナにおいて ANAC082 の過剰発現によって発現量が変動する遺伝子群の網羅的同定を行った。また、ANAC082 の発現がリボソーム合成量に与える影響を検討するために、ポリソームプロファイリング解析を行った。その結果、シロイヌナズナの ANAC082 過剰発現株では、リボソームの 40S サブユニット、60S サブユニット、及びポリソームの減少がみられた。これらの結果から、ANAC082 の過剰発現によりリボソーム合成の抑制と翻訳レベルの低下が引き起こされることが示された。

## 3. 植物の核小体ストレス応答への TOR 経路の関与の検討

真核生物において、栄養応答に重要な Target of Rapamycin (TOR) が不活性化された場合には、rRNA の転写が抑制されることが知られている。ANAC082 の過剰発現によりリボソームサブユニット量の減少がみられたことから、ANAC082 過剰発現株では TOR が不活性化されている可能性が考えられた。その可能性を検証するために、TOR のリン酸化標的である S6 キナーゼならびにさらにそのリン酸化標的である RPS6 のリン酸化レベルをウェスタンブロットティングにより解析した。その結果、両者ともに ANAC082 の過剰発現によってリン酸化レベルが低下した。また、TOR の阻害剤を上述のレポーター植物に添加したところ、ANAC082 の発現量は有意に上昇した。これらのことから、ANAC082 は TOR 経路を阻害すると同時に、その発現は TOR 経路によるフィードフォワード制御を受けている可能性が示された。

以上、本研究により、核小体ストレスに応答した ANAC082 の発現制御に uORF が関与することと、ANAC082 が TOR 経路を介して核小体ストレス時にリボソーム合成を抑制することが見出された。これらの成果は、植物の核小体ストレス応答機構の解明に大きく寄与するものである。

よって、審査員一同は、佐々木駿が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。