HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular genetic study on gravitropism and gravitropic growth habit of the Arabidopsis shoot [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佐々木, 秋
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11841号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59028
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shu_Sasaki_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　氏　名　　佐々木　秋

学 位 論 文 題 名

Molecular genetic study on gravitropism and gravitropic growth habit of the Arabidopsis shoot
（シロイヌナズナシュートの重力屈性及び成長習性に関する分子遺伝学的研究）

高等植物の軸性器官は固有の成長方向を持つ。例えば、シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）の花茎は主茎と側枝により構成されるが、主茎は垂直上方へ、側枝は斜め上方へ成長する。この成長方向により決定される植物の形を成長習性（growth habit）と呼び、成長習性の決定には軸性器官の重力応答が深く関連している。即ち、軸性器官が倒れたときの屈曲応答（重力屈性）に異常が見られるシロイヌナズナの変異体は成長習性においても倒伏するなどの異常が見られる傾向がある。Yoshihara と Iino（2007）と Li ら（2007）がイネ（*Oryza sativa*）で単離した機能未知の遺伝子 *LAZY1* は、その後 Yoshihara ら（2013）と Dong ら（2013）によりそれぞれシロイヌナズナとトウモロコシ（*Zea maize*）の成長習性及びシュートの重力屈性に関与していることが示された。このことから *LAZY1* 遺伝子は高等植物に保存された成長習性及び重力応答の制御機構に関与することが示唆されたが、LAZY1 の分子機能は明らかになっておらず、また LAZY1 を介した植物の重力応答の分子機構も明らかでない。本研究ではシロイヌナズナの *LAZY1* 遺伝子（*AtLAZY1*）に着目し、それが関与する重力屈性メカニズムの解明を試みるとともに、その機能についても解析を行った。

はじめに *AtLAZY1* 変異体 *atlazy1* を用いて、AtLAZY1 が関与する遺伝学的経路を調べた。*atlazy1* 変異体は倒伏する成長習性を示し、重力屈性は減少する。この表現型を基準とし、既知の重力屈性関連遺伝子である *ALTERED RESPONSE TO GRAVITY 1*（*ARG1*）、及び、屈性に関与することが示されているオーキシン輸送体 *PIN-FORMED*（*PIN*） *3*、*PIN4*、*PIN7*、*P-GLYCOPROTEIN*（*PGP*）*1*、*PGP19* の変異が *atlazy1* の表現型に与える影響を、多重変異体を用いて解析した。その結果、*arg1* 変異は相乗的に *atlazy1* の表現型を促進し、一方で *pin* と *pgp* 多重変異は *atlazy1* の表現型に影響せず、相加的な効果を示した。この結果より、*AtLAZY1* は *PIN* や *PGP* とは異なる経路に関与し、*ARG1* の遺伝学的経路とは部分的に相互作用していることが示唆された。

次に、AtLAZY1 と同じ経路に関与する因子を探索するため、アクチベーションタギング法を用いて *atlazy1* の抑圧変異体 *do-not-say lazy 1* （*dsl1*）を単離した。*dsl1* 変異体は転写因子遺伝子 *ASYMMETRIC LEAVES 2-LIKE 5*（*ASL5*）の過剰発現体であることが分かったため、マイクロアレイ法を用いてトランスクリプトーム解析を行った。その結果、*dsl1* では二次細胞壁合成に関連する遺伝子の発現が有意に増加しており、また実際に植物体内で二次細胞壁合成の亢進が認められた。この結果より、*dsl1* による *atlazy1* 表現型の抑圧が二次細胞壁合成の亢進によることが示唆されたため、セルロース合成阻害剤や、二次セルロース合成酵素遺伝子変異の重力屈性への影響を調べた。その結果、いずれの実験においても重力屈性の減少が見られたことから、AtLAZY1 が関与する重力屈性及び成長習性の制御メカニズムに二次細胞壁合成が関与していることが示唆された。

更に、AtLAZY1 タンパク質の機能を調べるため、同タンパク質の部分配列を用いて局在解析を行った。その結果、AtLAZY1 の C 末端側の部分配列は微小管と共局在することが分かった。また、*in vitro* で AtLAZY1 の部分配列と微小管の結合を確認した。これらの結果より、AtLAZY1 は微小管に相互作用することにより重力屈性における何らかのメカニズムを制御していることが示唆された。また、イネとトウモロコシの LAZY1 は N 末端側に膜貫通領域を持つ膜貫通型タンパク質であることが示唆されていた（Li et al. 2007; Dong et al. 2013）。しかし、AtLAZY1 の N 末端側部分配列は膜局在を示さないにも関わらず、AtLAZY1 は原形質膜に局在することが分かった。実際、植物組織抽出液中の AtLAZY1 は膜分画局在だが、界面活性剤及びアルカリ処理により可溶化されたので、AtLAZY1 は膜表在型タンパク質と考えられ、その原形質膜局在は他の膜貫通タンパク質との相互作用によることが示唆された。

これらの結果より、重力応答や成長習性を制御する遺伝学的経路には AtLAZY1 依存的経路と非依存的経路が存在することが示唆され、AtLAZY1 の特徴は後者の経路に関与すると考えられている ARG1 タンパク質と類似していることから、重力応答や成長習性制御は膜近傍における複数のシグナリング経路によって制御されていると結論した。