



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Controls of mRNA degradation in Arabidopsis : Investigating cold stress response and mRNA decay machinery [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	荒江, 星拓
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第13611号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74409
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Toshihiro_Arae_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士 (生命科学) 氏 名 荒江 星拓

審査担当者	主査	准教授	千葉	由佳子
	副査	教 授	山口	淳二
	副査	教 授	内藤	哲

学 位 論 文 題 名

Controls of mRNA degradation in Arabidopsis:
Investigating cold stress response and mRNA decay machinery
(シロイヌナズナにおける mRNA 分解制御 :
低温ストレス応答および mRNA 分解酵素複合体に関する研究)

博士学位論文審査等の結果について (報告)

植物は成長に適した環境条件を必要とするが、その固着性のため多くの過酷な環境にも直面する。多様な環境への適応には、遺伝子発現調節を介した環境ストレス応答機構が重要な役割をもつが、その研究の多くは mRNA の合成段階である転写制御を中心に進められてきた。近年、転写後制御に関する重要性も再認識され始めてはいるが、その知見はいまだ限定的である。

本論文の著者は、特に環境ストレスに応じた mRNA 分解制御に着目した。本論文では制御を受ける遺伝子側からのアプローチとして、シロイヌナズナの培養細胞を用いて、低温ストレス応答時に mRNA の半減期が変化する遺伝子群を独自に開発した網羅解析により明らかにした。また、その制御の生理学的な意義を明らかにするために、数学的な手法を盛り込んだ解析を行い、低温ストレス時に大きく mRNA 量を増加させる遺伝子群において、転写の増大と協調した mRNA 分解の促進が起こることを示した。mRNA 分解速度は mRNA 量の変化速度に影響を与えることから、mRNA 量の迅速な増加を可能にするために分解速度を促進させると考えた。この研究成果は、低温ストレス応答および mRNA 分解制御の両分野に新たな知見をもたらすものであり、筆頭著者として *Plant and Cell Physiology* 誌に公開済みである。

本論文ではもうひとつのアプローチとして、mRNA 分解制御を担う因子の解析を行った。ポリ A 分解は mRNA 分解の最初の段階であり、律速段階と考えられる重要な制御段階である。著者はシロイヌナズナのポリ A 分解を担う酵素 AtCCR4 の相互作用因子を免疫沈降と質量分析によって探索した。atccr4 変異株は多彩な表現型を示し、それぞれに特異的な標的遺伝子を持つと考えられる。しかし、AtCCR4 自身は RNA への結合ドメインを持っていない。よって、AtCCR4 相互作用因子の探索では、AtCCR4 の標的遺伝子の認

識に関わる RNA 結合タンパク質が見つかる可能性がある。候補因子に関しては、yeast two-hybrid 法および bimolecular fluorescence complementation (BiFC) 法によって相互作用を検証した。その結果、AtCCR4 は AtNOT1 を足場タンパク質とする大きな複合体 (AtCCR4-NOT 複合体) を形成することがわかった。この複合体には別のポリ A 分解酵素である AtCAF1 も含まれる。AtCCR4 と AtCAF1 はほかの真核生物に比べて遺伝子数が増加しており、遺伝子重複あるいは機能分化が起きていると考えられる。実際に、AtCCR4-NOT 複合体では、AtCAF1 ファミリーの一部において AtCCR4 を含まない複合体の存在が示唆された。このような複合体の多様性はほかの生物種では報告されておらず、植物独自の現象である可能性がある。

同定された相互作用因子には RNA 結合タンパク質も含まれていた。なかでも、APUM5 は、植物のストレス応答に関わることがすでに報告されている RNA 結合タンパク質であり大変興味深い。著者はこの APUM5 と AtCCR4 の相互作用に着目した。まず APUM5 と蛍光タンパク質の融合遺伝子をタバコ葉で一過的に発現させたところ、APUM5 が細胞質の凝集体に存在することが分かった。一般に mRNA 分解に関与する酵素をはじめとした因子群は、細胞質内の凝集体である Processing body (P-body) に存在することが知られている。そこで、APUM5 を P-body のマーカータンパク質と共発現させたところ局在が重なった。つまり APUM5 が P-body に存在することが明らかとなった。さらに、APUM5 と AtCCR4 の相互作用を BiFC 法により検証した。その結果、APUM5 と AtCCR4 が細胞質内の凝集体で相互作用することが明らかとなった。AtCCR4 も P-body に存在することから、この凝集体が P-body である可能性は高い。

この研究成果はポリ A 分解酵素である AtCCR4 が植物においても、ほかの真核生物と同等の巨大複合体を形成することを明らかにしただけではなく、その構成に植物独自の多様性が存在することを初めて示唆したことにある。また、特異的な標的遺伝子の認識に関わる可能性のある RNA 結合タンパク質を同定したことは、AtCCR4 が APUM5 を介してストレス応答性遺伝子の発現制御に関わっている可能性を示しており、今後の植物のポリ A 分解制御に関する研究に大きな洞察を与えるものとして評価できる。

本論文ではシロイヌナズナの mRNA 分解制御の生理学的意義と分子メカニズムの理解を目指したふたつのアプローチによる研究成果を報告している。よって、著者は北海道大学博士 (生命科学) の学位を授与されるが資格あるものと認める。