



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Analysis of ubiquitin signaling and membrane traffic regulation in plant C/N-nutrient responses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	長谷川, 陽子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14832号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85990
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yoko_Hasegawa_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 長谷川陽子

審査担当者	主査	准教授	佐藤長緒
	副査	教 授	山口淳二
	副査	教 授	田中一馬
	副査	教 授	藤田知道
	副査	助 教	高木純平

学 位 論 文 題 名

Analysis of ubiquitin signaling and membrane traffic regulation in plant C/N-nutrient responses
(植物の C/N 栄養応答におけるユビキチンシグナルと膜交通制御の解析)

博士学位論文審査等の結果について (報告)

ユビキチン化は、ユビキチンという 76 アミノ酸残基から成る小さなタンパク質の付加による、可逆的な翻訳後修飾の一種である。ユビキチン化の中でも、K48 鎖や K11 鎖による修飾はプロテアソーム分解の標識となるのに対して、K63 鎖は、DNA 修復やエンドサイトーシスなど、多様なシグナルとして働く。この修飾を触媒するのが、ユビキチンリガーゼと呼ばれる酵素である。

当研究室では、シロイヌナズナの膜貫通型ユビキチンリガーゼ ATL31 を栄養応答の重要な制御因子として同定し、解析を進めていた。栄養の中でも、炭素(C)と窒素(N)は代謝の根幹を成す因子であり、その相対量が植物の生育に影響を与える。例えば、炭素が多く窒素が少ない条件は植物にとってストレスとなり、発芽後成長の抑制や、老化の促進が起きる。ATL31 の過剰発現体は高 C/低 N 栄養ストレスに対して非感受性を示し、機能欠損変異体は高感受性を示す。先行研究により、ATL31 は 14-3-3 タンパク質をユビキチン化して分解に導くことで、高 C/低 N 栄養ストレス条件における植物の生育を可能にしていることが分かっていた。しかし、ATL31 の細胞内における局在パターンや輸送制御については未解明であった。そこで、本研究では、ATL31 の局在制御に着目し、植物の C/N 栄養応答制御機構の解明を目指して解析を行った。

まず初めに、共焦点顕微鏡を用いた細胞内局在解析により、ATL31 がトランスゴルジ網/初期エンドソーム(TGN/EE)と細胞膜との間を行き来し、液胞へと輸送されて分解されることを明らかにした。さらに、生化学的な解析により、ATL31 の相互作用因子として SYNTAXIN OF PLANTS61 (SYP61) という、TGN/EE 局在型の SNARE タンパク質 (Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor) を同定した。SNARE タンパク質は、輸送小胞と標的膜の間で SNARE 複合体を形成することで膜融合を実行する、膜交通の制御因子である。syp61 機能抑制変異体では、ATL31 が異常な局在パターンを示したことから、ATL31 の正常な局在制御には、SYP61 を必要とすることが分かった。この syp61 機能抑制変異体は、高 C/低 N 栄養ストレスに対して高感受性を示し、ATL31 過剰発現によるストレス耐性を抑制したことから、SYP61 による ATL31 の正常な局在制御が、ATL31 を介した高 C/低 N 栄養応答に必要であると考えられる。一方で、リコンビナントタンパク質を用いた in vitro アッセイと、植物体における一過的な共発現系から、ATL31 が SYP61 をユビキチン化できることが分かった。さらに、K63 鎖を含む SYP61 のユビキチン化は、低 C/高 N 栄養条件誘導的に一過的に促進されることが明らかとなった。

ユビキチン K63 鎖はエンドサイトーシスのシグナルとなることが知られており、SYP61 は細胞膜にも観察されることから、ユビキチン化が SYP61 の細胞膜からの取り込み促進に寄与する可能

性について検証した。その結果, SYP61 の細胞膜局在は, 低 C/高 N 条件では減少したものの, ATL31 過剰発現による影響は見られなかった。このことから, 少なくとも ATL31 による SYP61 のユビキチン化は, エンドサイトーシスのシグナルにはならないと考えられる。SYP61 ユビキチン化の下流については, 今後の詳細な解析が必要だが, 本研究の結果から, 植物において SNARE タンパク質がユビキチン化による機能制御を受けることが示唆された。

これを要するに, 著者は, 植物の C/N 栄養応答において SNARE タンパク質が重要な役割を果たすこと, ならびに膜交通制御におけるユビキチンシグナルの意義について新たな可能性を提示し, 植物の環境応答制御機構の理解に対して貢献するところ大なるものがある。

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資格あるものと認める。