

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小平 憲祐

---

第 I 章では、本研究の背景および目的について述べた。植物は、乾燥や高塩などの浸透圧ストレス下において、耐性獲得のために働くタンパク質群や、糖およびアミノ酸などの代謝産物を蓄積する。一方、植物は光合成や種々の代謝系を抑制して成長を抑えていると考えられる。シロイヌナズナの *STZ/ZAT10* は、C2H2 型 zinc-finger タイプの転写抑制因子をコードしており、浸透圧ストレスによって誘導される。*ZAT10* に特に相同性の高い 6 個のタンパク質は、分子系統解析により *ZAT10*、*ZAT6*、*AZF3* と *AZF1*、*AZF2*、*ZAT8* の 2 つのサブクラスに分類される。先行研究による遺伝子機能の解析の結果から、*ZAT10* と *ZAT6* は浸透圧ストレス下において重要な役割を担っていることが報告されてきた。しかし、*AZF1*、*AZF2*、*ZAT8* に関しては、形質転換体を用いた解析が困難であることから、機能解析はほとんど進められてこなかった。

本研究では、浸透圧ストレス下における C2H2 型 zinc-finger タンパク質の新規な働きを解明することを目的として、*AZF1*、*AZF2*、*ZAT8* の転写因子としての機能を比較解析した。また、*AZF1* と *AZF2* の生理的機能の解析、およびこれらの転写因子に共通な下流標的遺伝子の同定を行った。

第 II 章では、*AZF1*、*AZF2*、*ZAT8* の比較解析を行った。*AZF1* は乾燥処理により一過的に誘導され、*AZF2* は乾燥、高塩、アブシシン酸 (ABA) 処理により経時的に強く誘導された。一方、*ZAT8* はストレス誘導性を示さなかった。また、*AZF1* と *AZF2* は根の成熟領域で恒常的に発現しており、*AZF2* は浸透圧ストレス下の葉で強く誘導されたが、*ZAT8* の明瞭な発現部位は観察されなかった。

*AZF1*、*AZF2*、*ZAT8* をそれぞれ構成的に発現した形質転換植物の作出は非常に困難であり、これらの遺伝子の過剰発現は植物の正常な発生や生育を阻害することが示唆された。よって、GVG 転写誘導系によりこれらの遺伝子を一過的に発現誘導した形質転換植物を作出して、マイクロアレイ解析を行った。その結果、*AZF1* と *AZF2* の下流遺伝子には共通性があり、浸透圧ストレスとの顕著な相関が見られた。一方、*ZAT8* の下流遺伝子には浸透圧ストレスとの明瞭な関連性は確認されなかった。これらの結果から、*ZAT8* は *AZF1* や *AZF2* とは異なる機能を持つ転写因子であることが示唆されたため、*AZF1* と *AZF2* の転写抑制因子としての機能に注目して解析を進めた。

第 III 章では、*AZF1* と *AZF2* の機能解析を行った。GFP との融合タンパク質を用いた解析の結果から、*AZF1* と *AZF2* は根の成熟領域の細胞で核に蓄積しており、*AZF2* は高塩や ABA 処理により葉で蓄積することが確認された。

*AZF1* や *AZF2* の生理的機能を解明するために、GVG 転写誘導系やストレス誘導性プロモーターの制御下で *AZF1* や *AZF2* を一過的に発現誘導した形質転換植物の表現型を観察した。その結果、*AZF1* や *AZF2* の高発現体は、顕著な矮化、および高塩感受性を示した。

マイクロアレイ解析の結果から、*AZF1*や*AZF2*の高発現体では、転写や種々の代謝に関係する多数の遺伝子の発現が抑制されていた。これらの遺伝子の過度な転写抑制が形質転換体における正常な生理反応を阻害して、高塩感受性を誘起したと考えられた。*AZF1*や*AZF2*の高発現体において発現が抑制された遺伝子は、浸透圧ストレスやABA処理により発現量が減少する傾向を示した。さらに、*AZF1*と*AZF2*に共通な下流遺伝子には、オーキシン誘導性を示す多数の*SAUR*が含まれていた。ゲルシフト解析の結果から、これらの*SAUR*は*AZF1*や*AZF2*の直接の標的遺伝子であることが強く示唆された。また、これらの*SAUR*は、オーキシンによる細胞伸長に関与している可能性が高く、*AZF1*や*AZF2*の高発現体が示した矮化と関係性が高いと考えられた。

第IV章では、本研究で得られた結果を総括としてまとめた。本研究により、シロイヌナズナの*AZF1*と*AZF2*は、ABAに依存적および非依存적経路において多数の下流遺伝子の発現を抑制することにより、植物の浸透圧ストレス応答に寄与していることが示唆された。今後、*AZF1*や*AZF2*の結合配列や相互作用因子を解析することにより、C2H2型 zinc-finger タンパク質の転写抑制機構がより詳細に解明されることが期待される。

以上、本論文は植物の浸透圧ストレス時の成長制御機構において重要な役割を持つC2H2型 zinc-finger タンパク質の機能を明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。