

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ジャスモン酸類に早期応答する遺伝子JAM1,2,3 とGTR1 の機能に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	斉藤 洸
Author(English)	Hikaru Saitou
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9726号, 授与年月日:2015年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:太田 啓之,駒田 雅之,中村 信大,久堀 徹,増田 真二
Citation(English)	Degree;, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9726号, Conferred date:2015/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(論文博士)

論 文 要 旨 (和文2000字程度)

(Summary)

報告番号	乙 第	号	氏 名	齊藤 洸
(論文題目) ジャスモン酸類に早期応答する遺伝子 <i>JAM1, 2, 3</i> と <i>GTR1</i> の機能に関する研究 (要 旨) ジャスモン酸とその前駆体、またその類縁体はジャスモン酸類と呼ばれ、成長やストレス応答を制御する事が知られている。ジャスモン酸類は傷害や病原菌の感染、昆虫による食害といった外的な刺激によって早期に生合成が活性化される。これらストレス、もしくは外生のジャスモン酸処理によってジャスモン酸応答性遺伝子 (JRG) の発現を誘導する事が知られているが、JRG の発現から各代謝に至る経路の詳細は十分に解析が進んでいない。そこで、本研究ではジャスモン酸類に早期応答する遺伝子 <i>JAM1, 2, 3</i> と <i>GTR1</i> に着目し、その機能解析を行う事でジャスモン酸情報伝達経路の詳細を明らかにする事を目的とした。 <u>1. ジャスモン酸情報伝達を負に制御するbHLH型転写因子とJAZファミリータンパク質の相互作用解析</u> ジャスモン酸を介したストレス応答において転写制御の重要性が報告されており、その中でも転写因子がジャスモン酸情報伝達において主要な調節因子である事が分かっている。ジャスモン酸情報伝達において転写因子である JASMONATE-ASSOCIATED MYC2-LIKE 1 (<i>JAM1</i>)、<i>JAM2</i>、<i>JAM3</i> がジャスモン酸情報伝達の負の制御因子である事が報告されているが、これら転写因子の活性を制御する機構の詳細は不明であった。<i>JAM</i> 転写因子の制御機構を明らかにするために、我々は酵母ツーハイブリッド法を用いて <i>JAM1</i> と相互作用するタンパク質のスクリーニングを行った。その結果、<i>JAM1</i> が <i>JAZ</i> ファミリータンパク質と相互作用する事が分かった。<i>JAZ</i> タンパク質は転写因子 <i>MYC2</i> と相互作用し、その転写活性を抑制する事が知られている事から、我々はさらに <i>JAM1</i> から <i>JAM3</i> と <i>JAZ1</i> から <i>JAZ12</i> までのすべての組み合わせで相互作用解析を行った。その結果、<i>JAM1</i> と <i>JAM2</i> は数種類の <i>JAZ</i> タンパク質と相互作用した。しかし、<i>JAM3</i> はいずれの <i>JAZ</i> タンパク質とも相互作用しなかった。 <u>2. ジャスモン酸応答性NPFタンパク質GTR1によるジャスモン酸情報伝達の制御</u> ジャスモン酸情報伝達における新規の調節因子を特定するためにジャスモン酸合成遺伝子と共発現する遺伝子を探索した。その結果、<i>JAZ</i> ファミリーやジャスモン酸応答性転写因子に加えて複数の輸送体がジャスモン酸生合成遺伝子と共発現していることが分かった。その中でもNPFファミリー属しており、グルコシノレート輸送体をコードする <i>GTR1</i> が特にジャスモン酸生合成遺伝子と強く共発現していた。<i>GTR1</i> の機能解析を行う事によりジャスモン酸情報伝達経路の詳細を解明する事を本研究の目的とした。まず <i>GTR1</i> のジャスモン酸類に対する応答性を解析したところ、<i>GTR1</i> の発現はメチルジャスモン酸によって早期に誘導された。次に、<i>gtr1</i> 欠損体においてジャスモン酸応答遺伝子の発現解析を行った。<i>gtr1</i> 欠損体ではジャスモン酸応答のマーカー遺伝子である <i>PDF1. 2</i> がメチルジャスモン酸未処理で高発現し				

ており、メチルジャスモン酸を処理しても処理後24時間まで応答は見られなかった。このことから、GTR1のジャスモン酸情報伝達への関与が示唆された。次にこの変異体のメチルジャスモン酸に対する感受性を解析するために、メチルジャスモン酸が含まれた培地上で4週間植物体を育成した結果、*gtr1*欠損体は褐色に変化したのに比べ、野生型では緑色を保っていた。*gtr1*欠損体の緑色が失われる表現型は葉の老化が促進されたためと考えられたため、*gtr1*において老化マーカー遺伝子の発現解析を行った。その結果、*gtr1*においてメチルジャスモン酸処理後のSAG20の高発現が見られた。*gtr1*において緑色が失われる表現型はジャスモン酸誘導性の葉の老化促進によるものと示唆された。さらに*gtr1*はさやが小さく稔性が低下していたことから、花器官における表現型を詳細に解析したところ、*gtr1*は花糸が野生型と比較して短く、さらに葯の開裂に異常が見られた。しかし、*gtr1*の柱頭に野生型の花粉を受粉したところ完全に成熟したさやをつけ花粉の発芽率も野生型と同等であったことから、変異体における稔性の低下は雄ずいの発達異常が原因であると考えられた。実際、GUSレポーターを用いた局在解析によって、葯、花糸および花糸の基部でGTR1の発現が見られ、その発現は花糸の伸長が起きる期間でのみ見られた。ジャスモン酸は花器官の発達における特異的なステージにおいて花糸の伸長、葯の開裂、花粉の成熟を制御する事が知られている。このことから、GTR1はジャスモン酸情報伝達経路を介して雄ずいの発達を制御する事が示唆された。

3. ジャスモン酸応答性NPF タンパク質GTR1による雄ずい発達の制御

細胞膜を介した植物ホルモンの輸送は多様な生理学的現象を引き起こす事が知られている。特にオーキシンに関しては取り込み活性、排出活性を有する輸送体が特定されるなどその輸送機構の解析が進んでいる。しかし、その他の植物ホルモン輸送機構の解析の詳細は未だに不明である。近年の研究によってアブシジン酸やストリゴラクトンの輸送体が特定され、細胞膜を介した植物ホルモンの輸送は単に拡散によるものではなく特異的な輸送体によるもので、輸送タンパク質は植物の成長を制御する重要な因子である事が示唆された。今回我々はNITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family (NPF) タンパク質であり、抗菌性物質グルコシノレート輸送体として知られる GTR1/NPF2.10が複数の植物ホルモンをも輸送する複合的機能を有する輸送体である事を特定した。アフリカツメガエル卵母細胞を用いた輸送活性解析の結果、GTR1はグルコシノレートに加えてジャスモン酸イソロイシンやジベレリンをも輸送する活性を有することが分かった。また、*gtr1*欠損体は葯の開裂や花糸の伸長に異常が見られ、その結果稔性が低下していた。しかし、稔性の低下は花にジベレリンを処理する事で相補できた。

本研究のまとめ

JAM1・JAM2とJAZタンパク質の相互作用を初めて明らかにし、JAZタンパク質がMYC2の転写活性を抑制するのと同様にJAM1とJAM2に関してもタンパク質間相互作用を介してそれらの転写活性を抑制する事が示唆された。また、GTR1は構造的に異なる基質であるグルコシノレート、ジャスモン酸イソロイシン、ジベレリンを輸送する複合的機能を有する輸送体であることを明らかにし、その中でもジベレリンの供給を介して雄ずいの発達を促進する事が示唆された。

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容

で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(論文博士)

論 文 要 旨 (英 文)

(300語程度)

報告番号	乙 第	号	氏 名	齊藤 洸
------	-----	---	-----	------

(要 旨)

Comprehensive analysis of protein interactions between JAZ proteins and bHLH transcription factors that negatively regulate jasmonate signaling

Jasmonates have crucial roles in plant responses to biotic and abiotic stresses. Given the importance of transcriptional regulation in jasmonate-mediated stress responses, transcription factors are key regulators of jasmonate signaling. The transcription factors JASMONATE-ASSOCIATED MYC2-LIKE 1 (JAM1), JAM2, and JAM3 are negative regulators of jasmonate signaling, although the mechanisms that control the activities of these transcription factors remain unclear. To understand the regulatory mechanisms of JAM proteins, we used a yeast two-hybrid assay to screen for protein interaction partners of JAM1 and found that JAM1 interacted with JAZ proteins.

The jasmonate-responsive GTR1 transporter is required for gibberellin-mediated stamen development in *Arabidopsis*

Plant hormones are transported across cell membranes during various physiological events. Recent identification of abscisic acid and strigolactone transporters suggests that transport of various plant hormones across membranes does not occur by simple diffusion but requires transporter proteins that are strictly regulated during development. Here we report that a major glucosinolate transporter, GTR1/NPF2.10, is multifunctional and may be involved in hormone transport in *Arabidopsis thaliana*. When heterologously expressed in oocytes GTR1 transports jasmonoyl-isoleucine and gibberellin in addition to glucosinolates. *gtr1* mutants are severely impaired in filament elongation and anther dehiscence resulting in reduced fertility, but these phenotypes can be rescued by gibberellin treatment. These results suggest that GTR1 may be a multifunctional transporter for the structurally distinct compounds glucosinolates, jasmonoyl-isoleucine and gibberellin, and positively regulates stamen development by mediating gibberellin supply.

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).