

窒素代謝経路の転写増加を介したSTOP1制御下の多
面ストレス耐性に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2021-06-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 榎本, 拓央 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/78474

要 約	
氏 名 Name	榎本 拓央
題 目 Title of Dissertation	窒素代謝経路の転写増加を介した STOP1 制御下の 多面ストレス耐性に関する研究
地球温暖化の影響により環境変動する現代社会において、不良条件下における安定した食糧生産は重要な課題である。本研究で着目した転写因子 STOP1 は陸上植物に広く保存されており、細胞内 pH の向上性維持に関連する遺伝子を中心に環境抵抗性に関する機能を制御している。本研究では STOP1 が制御する環境ストレス耐性機構の解明を目指して、転写因子 STOP1 と酸関連ストレス耐性機構の研究を行った。	
第 1 章 酸耐性必須転写因子 STOP1 が制御する低酸素耐性機構の解析 転写因子 STOP1 (sensitive to proton rhizotoxicity 1) は植物の根において低 pH やアルミニウム (Al) など複数のストレス耐性に関係する遺伝子発現を制御することが知られている。STOP1 が制御する遺伝子群には細胞内 pH 調節に関わるものも含まれていた。本章で対象とした低酸素耐性は冠水時に生存するために必須な形質である。本章では、低 pH ストレスと共通した障害が引き起こされる低酸素ストレスに着目して STOP1 との関連性を解析した。 STOP1 と低酸素耐性との関係性を明らかにするために、野生株と <i>STOP1</i> 欠損株を用いて低酸素ストレス耐性の比較を行った。その結果、<i>STOP1</i> を欠損することで低酸素ストレスに感受性となり、STOP1 が低酸素耐性を示すために必要であることが分かった。さらに、この理由を特定する為に、マイクロアレイ解析を行ったところ低酸素条件下において <i>STOP1</i> 欠損株では低酸素耐性に関連するグルタミン酸脱水素酵素 1 (<i>GDH1</i>) と <i>GDH2</i> の発現が減少していた。実際、<i>GDH1GDH2</i> の 2 重変異体は低酸素に感受性を示すことから STOP1 欠損株の低酸素感受性を部分的に説明している。さらに、<i>STOP1</i> 欠損株で発現抑制されている遺伝子には転写因子である <i>STOP2</i> と <i>HsfA2</i> が含まれていた。<i>STOP1</i> 欠損株に <i>STOP2</i> 及び <i>HsfA2</i> を相補した組換え体は STOP1 欠損株の低酸素感受性を部分的に回復し、STOP1 下流のいくつかの遺伝子発現も回復した。続いて、<i>HsfA2</i> の制御が STOP1 による直接的な制御によるものか調べるためにプロモーターバイオインフォマティクスと組換え植物体による解析を行った。その結果、STOP1 は <i>HsfA2</i> プロモーター上流 433bp 付近に結合して低酸素ストレス時の転写を制御していることが明らかとなった。 STOP1 は陸上植物種において広く保存されているため、タバコにおいても同様の解析を行った。その結果、<i>NtSTOP1</i> 発現抑制株は低酸素ストレスに感受性を示し、<i>NtHsfA2</i> や <i>GDH1a</i> の発現が抑制されていることが示された。これらの結果から STOP1 が制御する低酸素耐性機構は陸上植物種に広く保存されることが示唆された。	

第2章 STOP1 が制御する Al 耐性に関連する代謝系遺伝子の解析

植物が持つストレス耐性のメカニズムにおいて、代謝調節は重要な耐性機構の一つである。第1章で行った解析から低酸素ストレスにおいて重要な代謝酵素遺伝子の発現の一部を STOP1 が制御していることが明らかとなった。STOP1 が関わる耐性メカニズムの一つである Al 耐性において、代謝との関連性はほとんどわかっていない。そこで、STOP1 が制御する遺伝子に着目して Al 耐性と代謝との関連性に関して解析を行った。

Al に特徴的に応答する代謝経路を同定するために、代表的な土壌イオンストレスである Al、Cu、Cd、Na のマイクロアレイデータを用いて変動する代謝系遺伝子群の比較を行った。Al のみで発現誘導が見られる遺伝子群は窒素代謝に含まれるグルタミン酸デヒドロゲナーゼ経路や硫黄代謝に含まれる硫酸同化とグルコシノレート合成経路であった。そこで、窒素代謝と硫黄代謝に着目して、STOP1 制御との関連性について解析を行った。窒素代謝においては硝酸還元酵素 1 (*NIA1*)、*GDH1*、*GDH2*、グルタミン酸脱炭酸酵素 1 (*GAD1*)、GABA 脱アミノ化酵素 (*GABA-T*) の発現が STOP1 制御下であった。さらに、*nia1nia2* 変異体及び *gdh1gdh2* 変異体は Al に感受性を示したことから硝酸還元酵素及びグルタミン酸脱水素酵素は Al 耐性に重要な代謝経路であることが明らかとなった。一方、硫黄代謝においては *ATPS1* 及び複数のグルコシノレート合成に関わる遺伝子発現が STOP1 によって制御されていることが明らかとなった。さらに、*atps1* 変異体は Al に感受性を示したことから硫酸同化経路も Al 耐性に重要な代謝経路であることが明らかとなった。

加えて、STOP1 が最も強く制御する *AtALMT1* の代謝への影響を解析したところ、*AtALMT1* を過剰発現することによって窒素代謝遺伝子である *NIA1* の発現上昇が見られた。このことから STOP1 だけでなく STOP1 下流の *AtALMT1* によっても Al 耐性に重要な耐性機構が影響を受けることが見出された。

第1章の解析から STOP1 が酸性土壌において主要な害となる低 pH、Al ストレス耐性だけでなく同じく酸関連ストレスである低酸素ストレス耐性を制御していることが明らかとなった。この耐性メカニズムは STOP1 が窒素代謝遺伝子 *GDH1GDH2* の発現を制御しているものである。さらに第2章の解析から Al 耐性においても *GDH* 及び *NIA* と言った窒素代謝遺伝子の発現が重要であることが明らかとなった。STOP1 が制御する窒素代謝遺伝子は複数のストレス耐性を獲得する上で重要な役割を果たしている。