

氏名	吉本 香織
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第5148号
学位授与の日付	平成27年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 地球生命物質科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	A chemical biology analysis of the action of thermospermine in xylem differentiation of <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナの木部分化におけるサーモスペルミンの作用に関するケミカルバイオロジー解析)
論文審査委員	教授 高橋 卓 教授 沓掛 和弘 准教授 本瀬 宏康

学位論文内容の要旨

ポリアミンはあらゆる生物の細胞内に存在する低分子塩基性化合物で、mRNAの安定化や翻訳促進、タンパク質の活性化など多面的な生理活性を持つ。植物において、器官の成長や環境ストレス応答に関与するポリアミンの一種にサーモスペルミンがある。茎の伸長欠損を示すシロイヌナズナの矮性変異株 *acl5* の解析から、サーモスペルミンは木部分化の抑制因子として働き、茎の伸長をもたらすことが示されている。一方、植物ホルモンのオーキシンは木部分化に必要な転写制御因子の発現を誘導する。また、木部分化の制御には、サイトカイニンやペプチドホルモンなど、様々なシグナル分子が関わっているが、サーモスペルミンとの相互作用や機能の階層性は、全く調べられていない。本研究では、木部分化の制御因子としてのサーモスペルミンの詳細な作用機構の解明を目指し、ケミカルバイオロジーの手法を用いて、サーモスペルミンの合成や生理活性に影響を与える化合物の研究を行った。

約 2000 種からなる化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにより、*acl5* 変異株の葉脈に見られる過剰な木部分化を亢進する化合物として 2,4-D イソオクチルエステル (2,4-D IOE) を発見した。2,4-D IOE は、合成オーキシン 2,4-D の類縁体で、オーキシンに応答する DR5 プロモーター:レポーター遺伝子を組込んだ植物が、2,4-D IOE 処理後にレポーターの高い発現を示したことから、IOE が分解されて 2,4-D を遊離するオーキシン前駆体として働くことが示唆された。培地にサーモスペルミンと 2,4-D IOE を同時添加したところ、2,4-D IOE による葉脈の過剰な木部分化を亢進する効果は、サーモスペルミンによって打ち消された。また、木部分化の顕著な亢進効果は野生株では認められなかった。さらに、サーモスペルミンなしで *acl5* 変異株の表現型を抑圧するサプレッサー変異株 *sac51-d* の幼植物を、2,4-D IOE を添加した培地で培養したところ、木部分化を亢進する効果は見られなかった。ACL5 遺伝子は前形成層や木部前駆細胞で発現し、2,4-D によっても誘導されることから、維管束植物におけるサーモスペルミンの働きは、オーキシンの木部分化誘導活性に対する負のフィードバック機構の一端として、オーキシンの活性を抑制することであると結論づけられた。

サーモスペルミンの作用機構のさらなる解明を目的として、サーモスペルミン合成阻害剤を開発した。プロピルプトレシンは、スペルミジンの C3 構造の末端にアミノ基が付いていない構造をしているため、スペルミジンのアンタゴニストになると考えられる。プロピルプトレシンを含む培地でシロイヌナズナの野生株を生育させると、サーモスペルミンの蓄積量が低下し、さらに葉脈の木部分化を亢進したことから、その効果にちなんでザイレミンと名付けた。ザイレミンをシロイヌナズナ野生株の茎頂に投与し続けると茎の伸長が抑制され、*acl5* 変異株同様の表現型を示した。培地にザイレミンとサーモスペルミンを同時に添加すると、外的なサーモスペルミンにより、木部分化の抑制が観察された。また、2,4-D IOE とザイレミンを同時添加すると、2,4-D IOE による顕著な木部分化促進効果がザイレミン処理によりさらに増強し、リグニンの蓄積の増加も見られた。ザイレミンによりサーモスペルミンの合成が阻害されたため、2,4-D IOE のオーキシンとしての効果が抑制できずに木部分化が増強されたと考えられる。サーモスペルミンを合成しない *acl5* 変異株とサプレッサー変異株 *sac51-d* に同様の処理を行ったところ、木部分化の促進効果は見られなかった。木部分化を促進するザイレミンの効果は、タバコにおいても示された。以上の結果より、ザイレミンがサーモスペルミンの合成阻害剤として利用できることを明らかにした。サーモスペルミンによる木部分化制御機構の解明の手がかりとなる一方、木質バイオマスの制御にも応用できると期待される。

論文審査結果の要旨

維管束木部の過剰な分化を示すシロイヌナズナの矮性変異株 *acl5* の解析から、ポリアミンの一つ、サーモスペルミンは木部分化の抑制因子として働くことが示されている。本研究では、シロイヌナズナにおけるサーモスペルミンの合成や生理活性に影響を与える化合物の探索がすすめられた。

化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにより、*acl5* 変異株葉脈の過剰な木部分化を亢進する化合物として **2,4-D** イソオクチルエステル (**2,4-D IOE**) が単離され、**IOE** が分解されて **2,4-D** を遊離するオーキシンの前駆体として働くことが示唆された。**2,4-D IOE** による木部分化の亢進効果は、外的なサーモスペルミンによって打ち消され、また、この効果は野生株では認められなかった。**ACL5** 遺伝子は前形成層や木部前駆細胞で発現し、**2,4-D** によっても誘導されることから、維管束植物におけるサーモスペルミンの働きは、オーキシンの木部分化誘導活性に対する負のフィードバック機構の一端として、オーキシンの活性を抑制することであると結論づけられた。

一方、プロピルプトレシンは、スペルミジンのアンタゴニストとしてサーモスペルミン合成阻害剤になると考えられたことから、その活性が検討された。プロピルプトレシンを含む培地でシロイヌナズナの野生株を生育させると、サーモスペルミン含量が低下し、葉脈の木部分化を促進したことから、その効果にちなんでザイレミンと名付けられた。ザイレミンを野生株の茎頂に投与し続けると、*acl5* 変異株同様の矮化表現型を示した。ザイレミンとサーモスペルミンの同時添加では、ザイレミンの効果は打ち消され、ザイレミンと **2,4-D IOE** を同時添加すると、ザイレミンによる木部分化促進効果がさらに増強した。ザイレミンがサーモスペルミンの合成を阻害したため、**2,4-D IOE** のオーキシンとしての効果が抑制されず木部分化が増強したと考えられる。以上、サーモスペルミン合成阻害剤としてザイレミンの効果が実証された。サーモスペルミン、ザイレミン、**2,4-D IOE** の組み合わせ投与は、木質バイオマスの制御に広く応用が期待される。

本研究成果は、植物の維管束木部分化におけるサーモスペルミンの作用機構の解明につながる重要な知見を含み、博士の学位に値すると判断した。