

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06273

研究課題名(和文) サイクリン依存性キナーゼAに見出した新奇なブレーキ機能の生理的意義とその分子基盤

研究課題名(英文) A novel function of cyclin dependent kinase A in land plants

研究代表者

藤田 知道 (Fujita, Tomomichi)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：50322631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究成果により、PpCDKAが細胞周期以外にも環境ストレスを含む様々な環境応答反応に重要な機能を持つ因子であることを示すことができた。特にCDKAによる光応答の分子制御メカニズムを詳細に研究し、CDKAは細胞周期制御とは独立に光応答を制御しており、その機能はヒメツリガネゴケだけではなく被子植物のシロイヌナズナでも保存されていることを見出した。さらにヒトや動物においてもCDKAオルソログであるCDK1が細胞周期以外に環境応答を制御している可能性を提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CDKAが細胞周期とは独立に光応答を制御するという機能はこれまで知られておらず、またこの機能が陸上植物に保存されたものであるという発見の学術的意義は極めて高い。また本研究によりヒトを含む動物においてもCDKAオルソログ、CDK1がストレス応答に関与している可能性が考えられ、この機能と疾病の関与を今後新たに検討することが必要になるかもしれない。このように本研究は基礎植物学のみならず農学や医学など幅広い分野に影響を与える社会的意義の高いものである。

研究成果の概要(英文)：Our results show that PpCDKA is a factor with important functions in various environmental stress responses, in addition to the cell cycle. In particular, we studied in detail the mechanism of molecular regulation of light responses by CDKA and found that CDKA regulates light responses independently of cell cycle regulation, and that this function is conserved not only in *Physcomitrella patens* but also in the angiosperm *Arabidopsis thaliana*. We also proposed that CDK1, a CDKA orthologue in humans and animals, may regulate environmental responses in addition to the cell cycle.

研究分野：植物科学

キーワード：サイクリン依存性キナーゼ 環境応答 新機能

1. 研究開始当初の背景

植物は常に周囲の環境からストレスを受け、ストレスに対応するためにエネルギーを消費している。ストレス耐性と成長はトレードオフの関係にあり、限られたエネルギーをどの程度ストレス応答に使い、どの程度成長に使うのか、このバランス制御は重要である。従ってこの分子制御機構の全体を理解することは、植物の生存戦略の本質的なしくみを理解することになる。しかしこの制御機構は複雑でありその分子実態の全体像はまだよくわかっていない。

私たちはコケ植物ヒメツリガネゴケにおいて、植物の成長に重要な細胞周期エンジンの中核をなすサイクリン依存性キナーゼ PpCDKA (*Physcomitrella patens* CDKA) に着目し、その遺伝子破壊株を作成したところ、通常の栽培環境下では致死とはならず、ほぼ正常に成長することを見出していた。ところがこの遺伝子破壊株は高温、乾燥などに対するストレス感受性が著しく亢進しており、細胞が極性を失い球状に変化しその後死に至ることを見出した。またストレスホルモンであるアブシジン酸 (ABA) にも高感受性を示すことを見出した。これらの結果は、CDKA が外界からの環境ストレス応答に重要な役割を持っており、環境ストレスに対して過剰なストレス応答が起こらないように抑制していることを示しており、CDKA は成長と環境応答のバランスを制御している重要なタンパク質である可能性が考えられた。

2. 研究の目的

そこで本研究では、CDKA による成長の制御と環境ストレス応答の制御メカニズムを研究しその分子基盤の解明を目指し、植物の重要な生存戦略の1つ、成長とストレス応答のバランス制御の新しい局面を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

- 1) 複数のストレス (高温、乾燥、塩、紫外線、弱光、強光、過重力など) に対して *cdka* 遺伝子破壊株の応答を調べたとともに、CDKA のターゲットでありストレス応答制御に関わる可能性の考えられる新たな因子の探索を試みる。
- 2) CDKA のターゲットを探索するために、*cdka* 遺伝子破壊株と野生株を高温下や過重力ストレス下で培養し、両者の遺伝子発現を網羅的に比較し、有意な発現変動遺伝子の中からストレス応答に関わるものの探索を行う。
- 3) 特に遺伝子破壊株と野生株を異なる光環境下で培養したところ、光屈性や葉緑体定位運動に関係することを見出した。そこでこの点について、特に分子遺伝学的手法、生化学的手法、細胞生物学的手法、情報科学的手法など多角的な研究方法により解析を進める。

4. 研究成果

(1) 広範なストレスに対してこの遺伝子破壊株の応答を調べたところ、PpCDKA が高温馴化の制御に関わる可能性が得られた。そこで再現性の確認を行ったが良い結果が得られなかった。また乾燥ストレスに対する応答性を定量的に評価しようと試みたが、ばらつきが多く、この点も再現性のある結果が得られずさらに培養系や定量的評価について検討の余地がある。

(2) CDKA のターゲットでありストレス応答制御に関わる可能性の考えられる新たな因子の探索を PpCDKA に蛍光タンパク質遺伝子を融合した組換え体を作成し、蛍光タンパク質に対する抗体を用いて免疫沈降し、共沈したタンパク質を質量分析系により多数同定することができた。現

在も、これら免疫沈降物を調べ一部について候補タンパク質の遺伝子破壊株を作成し、機能評価を継続している。

(3) 遺伝子破壊株と野生株を高温下で培養し、両者の発現変動遺伝子を網羅的に解析し、ストレス応答に関わると予想できるものを多数同定する事ができた。

(4) 遺伝子破壊株を過重力ストレス下で栽培したところ、野生型に比べて仮根の伸長に有意な差が見られた。また茎葉体の成長も野生型に比べて遅延していることなどを見出すことができた。

(5) cdka 破壊株と野生株で仮根の伸長に差が見られたので、仮根の頂端細胞で発現変動する遺伝子群を網羅的に調査する準備を整えることができた。

(6) 光強度を変えて光屈性や葉緑体の光定位運動などを調べることにより、CDKA が光応答にも関与することを見出した。

(7) 以上のように本研究成果により、PpCDKA が細胞周期以外にも環境ストレスを含む様々な環境応答反応に重要な機能を持つ因子であることを示すことができた。

(8) 以上の発見に基づき、CDKA による光応答の分子制御メカニズムを詳細に研究し、CDKA は細胞周期制御とは独立に光応答を制御しており、その機能はヒメツリガネゴケだけではなく被子植物のシロイヌナズナでも保存されていることを見出した。したがって CDKA が持つ細胞周期非依存的な光応答制御機能は広く陸上植物に保存されたものであると考えられた。また動物の CDKA オルソログ、CDK1 でも同様に環境応答を制御している可能性を新しく提唱できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yokono, M., Takabayashi, A., Kishimoto, J., Fujita, T., Iwai, M., Murakami, A., Akimoto, S., Tanaka, A.	4. 巻 60
2. 論文標題 The PSI-PSII megacomplex in green plants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1098-1108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcz026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Furukawa, R., Aso M, Fujita, T., Akimoto, S., Tanaka, R., Tanaka, A., Yokono, M., and Takabayashi, A.	4. 巻 132
2. 論文標題 Formation of a PSI-PSII megacomplex containing LHCSR and PsbS in the moss Physcomitrella patens	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 867-880
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-019-01138-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤田知道, 久米篤, 蒲池浩之, 小野田雄介, 半場祐子, 日渡祐二, 唐原一郎	4. 巻 11
2. 論文標題 1gとは異なる重力環境で植物はどのように育つのだろうか - コケ植物を用いた宇宙実験(スペース・モス)から期待できること -	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BSJ-Review	6. 最初と最後の頁 60-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24480/bsj-review.11a6.00178	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上夏実, Liang Bao, 菅原駿人, 石川雅樹, 後藤栄治, 関根政実, Ooi Kock Teh, 長谷部光泰, 和田正三, 藤田 知道
2. 発表標題 陸上植物におけるCDKAによる葉緑体運動制御
3. 学会等名 日本植物学会第83会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Natsumi Inoue, Liang Bao, Masaki Ishikawa, Takeshi Higa, Yuji Hiwatashi, Masami Sekine, Ooi-Kock Teh, Mitsuyasu Hasebe, Masamitsu Wada, Tomomichi Fujita
2. 発表標題 PpCDKA controls light signaling in Physcomitrella patens
3. 学会等名 iMOSS 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eggie Febrianto Ginanjar, Masaki Ishikawa, Masami Sekine, Natsumi Inoue, Mitsuyasu Hasebe, Ooi-Kock Teh, and Tomomichi Fujita
2. 発表標題 Requirement of kinase activity of CDKA on the novel functions in the moss, Physcomitrella patens
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究業績 https://www.sci.hokudai.ac.jp/PlantSUGOnline/publication/

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------