

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23770058

研究課題名（和文） 翻訳後修飾によるジベレリン信号伝達機構の解析

研究課題名（英文） Analysis of GA signaling by post-translational modification

研究代表者 深澤 壽太郎 (FUKAZAWA JUTAROU)
 広島大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：90385550

研究成果の概要（和文）：

ジベレリン（GA）は、発芽、成長、開花を制御する植物ホルモンである。GA 信号伝達では核内タンパク質 DELLA の分解が鍵反応である。DELLA と相互作用する転写因子 GAF1 を単離した。GAF1 複合体は GA 依存的に転写促進複合体から抑制複合体に機能転換し、GA フィードバック制御において主要な役割を担っていることを明らかにした。また、GAF1 複合体が、翻訳後修飾制御される可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：

Gibberellins (GA) regulate germination, growth, development and flowering. The degradation of DELLA protein by GA is a key reaction in GA signaling. We identified a transcription factor GAF1 as a DELLA interaction protein. GA regulate the component of GAF1 complex via proteolysis of DELLA protein. GAF1 complex control GA feedback regulation. We investigate the post translational modification of GAF1 complex.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：植物ホルモン・成長生理・全能性

1. 研究開始当初の背景

植物ホルモン・ジベレリン（GA）は、発芽、伸長成長、葉の展開、開花時期を制御することが知られている。変異体などの解析から、多くの GA 生合成遺伝子、GA 信号伝達因子が明らかとなった。GA 信号伝達において中心的な役割をなす DELLA タンパク質は、植物固有の核内タンパク質であり、抑制因子として働くことが知られている。これまでの研究より、

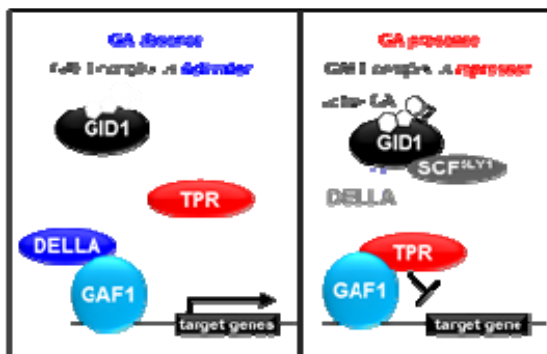
DELLA タンパク質は、植物の成長に対し抑制因子として働き、DELLA タンパク質が核内に蓄積すると、成長が抑制され著しく矮化する（右写真）。GA は、DELLA



野生型 DELLAタンパク質蓄積型(変異体)

タンパク質の分解を促進することで植物の成長を制御する。DELLA タンパク質の安定性は、GA のみならずその他のホルモンや環境ストレスによって制御されることが知られており、植物の成長を制御する主要な因子とされている。しかし、GA 信号伝達において DELLA タンパク質の作用メカニズムや、信号伝達の下流に存在する成長制御における本質的な標的遺伝子の同定はなされていない。

申請者は、独自の手法により DELLA タンパク質と相互作用する転写因子 GAF1 を見出した。現在までに、GAF1 相互作用因子として DELLA タンパク質のほかに TOPLESS ファミリーに属する TPR タンパク質を単離しその作用モデルを確立した(下モデル図)。DNA 結合能を持たない DELLA タンパク質は、DNA 結合能を有する転写因子 GAF1 を介して標的遺伝子の発現を制御する、DELLA タンパク質は、転写活性化能を有するコアクチベーターであることを明らかとした。対照的に TPR タンパク質は、転写抑制能を有するコリプレッサーとして機能することも明らかと成った。GA 非存在下では GAF1 タンパク質は、DELLA タンパク質と結合し、転写活性化複合体として標的遺伝子の発現を促進する。GA 存在下では、DELLA タンパク質が分解され、GAF1 は、TPR タンパク質と結合し、転写抑制複合体となり標的遺伝子の発現を抑制する。モデル図のように、DELLA タンパク質の分解を介して、GAF1 複合体は、GA の有無によって転写活性化能を



真逆に転換できることが明らかとなった。GA 初期応答遺伝子の多くは、発現が減少するものが多い。また、DELLA タンパクの蓄積は、多くの遺伝子発現を促進することが誘導系を用いたマイクロアレイ解析よりあきらかとなっている。これらの報告結果は、上述の GAF1 複合体モデルを支持するものである。

また、形質転換体を用いた研究において、GAF1 過剰発現体は、開花時期の促進、胚軸、茎の伸長、葉の展開といった野生型に GA を投与したような表現型を示した。対照的に、*gaf1 gaf2* 変異体は、開花遅延、矮化等の表現型を示した。さらに、外部からの GA 投与でもこれらの表現型が回復できないことから、*gaf1 gaf2* 変異体は、GA 非感受性変異体と考えられた(下図)。以上の研究成果から、GAF1 は、GA 信号伝達において DELLA タンパク質の下流で働く転写因子と考えられた。



2. 研究の目的

1996-7 年に、GA 信号伝達における抑制因子として DELLA タンパク質と SPY タンパク質が相次いで発見された。DELLA タンパク質は、機能未知の核タンパク質であり下流の信号伝達を抑制している。GA 投与により DELLA タンパク質が速やかに分解され抑制が解除されることで GA 応答が誘引される。

また、SPY タンパク質は、その構造から GlcNAc 転移酵素としての機能が予測されているが、具体的な標的タンパク質が明らかになっておらず、その機能は明らかとなっていない。両タンパク質は、共に抑制因子として機能することが知られており、遺伝学的な解析から、DELLA タンパク質の機能制御に SPY タンパク質が必要であると考えられてきた。しかし、DELLA タンパク質と SPY タンパク質は、相互作用しないことから両タンパク質の関係は未だに明らかになっていない。また、GlcNAc 修飾は、リン酸化と拮抗することが知られており、この修飾制御には、キナーゼ等、加水分解酵素も重要な働きをされると考えられる。実際に、DELLA タンパク質のリン酸化するキナーゼ等が単離されている。本研究では、GAF1 複合体の翻訳後修飾の有無を検討し、GA による GAF1 複合体の制御機構を明らかにする。

3. 研究の方法

これまでに、GAF1 タンパク質は、DELLA タンパク質ばかりでなく、植物の上下を決定する転写抑制因子 TOPLESS 様タンパク質 (TPR) とも相互作用することが明らかとなった。酵母、及び植物の培養細胞を用いた実験系を確立し、GAF1 タンパク質は DELLA タンパク質と転写活性化複合体、TPR タンパク質と転写抑制複合体を形成し、転写を制御しうることを明らかにした。GAF1 複合体による標的遺伝子の転写制御に対して、翻訳後修飾タンパク質による GAF1 複合体に対する転写活性化能の変化及び、相互作用因子の変動に着目し、植物細胞のトランジェント解析系を用いて検証する。また、myc-tag 等を付加した GAF1 及び複合体を発現する形質転換植物を作成し、植物体内における GAF1 複合体の翻訳後修飾の有無を明らかにする。

In vitro 系において、翻訳修飾酵素、GAF1 複合体を発現させ、GAF1 複合体の翻訳後修飾の有無を検出する。

4. 研究成果

GA 信号伝達において DELLA タンパク質は、抑制因子として知られている。GA 投与により DELLA タンパク質が速やかに分解され抑制が解除されることで GA 応答が誘引される。これまでに、DELLA タンパク質の相互作用因子 GAF1 の単離に成功し DELLA-GAF1 複合体が転写活性化複合体として、またもう一つの GAF1 相互作用因子である TPR タンパク質と転写抑制複合体を形成し、下流の標的遺伝子の発現制御を行っていることを明らかにしてきた。本研究では、GAF1 複合体には、DELLA、TPR タンパク質のみならず、機能未知であるが、翻訳後修飾タンパク質と推定される因子が、GAF1 複合体に含まれることを明らかにした。植物細胞のトランジェント解析により、この翻訳後修飾タンパク質は、GAF1 複合体の転写活性化能を変化させることが明らかになった。また、myc タグを融合した形質転換植物の解析から、GAF1 複合体は、複数個所リン酸化を受けることが明らかとなった。現在修飾部位の同定を試みている。以上の結果より、GA による DELLA タンパク質の分解により複合体の構成が制御されることを明らかとしてきたが、さらに翻訳後修飾による制御機構の存在を示した。GAF1 複合体の転写活性化複合体から、転写抑制複合体への変換は GA のみならず、翻訳後修飾によっても制御される可能性を示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 8 件)

① **深澤壽太郎**, 藤木敬大, 森雅彦, 増谷優次, 神谷勇治, 山口信次郎, 高橋陽介
“ジベレリンによる DELLA-GAF1 複合体を介した転写調節制御機構の解析”
第 35 回 日本分子生物学会年会 ワークショップ 福岡国際会議場 2012.12.12

② 松田詩織, 小松由貴, 梅津麻実, **深澤壽太郎**, 山口信次郎, 神谷勇治, 三橋渉, 加藤修雄, 豊増知伸 “フシコクシンによる種子発芽促進機構に関する研究 -第 2 報-”
植物化学調節学会第 47 回大会 鶴岡 2012. 10. 27

③ 千葉光浩, **深澤壽太郎**, 三橋渉, 加藤修雄, 豊増知伸
“フシコクシンによる bZIP 型転写因子の制御”
植物化学調節学会第 47 回大会 鶴岡 2012. 10. 27

④ **Fukazawa J.**, Murakoshi S, Teramura H, Nasuno K, Nishida N, Yoshida M, Kamiya Y, Yamaguchi S, Takahashi Y, “GAF1, A DELLA INTERACTING PROTEIN, REGULATES GIBBERELLIN SIGNALING IN ARABIDOPSIS”Frontiers in plant biology: From discovery to applications (Nature conference), Ghent Belgium, 2012.10.4

⑤ 森 雅彦, 渡邊 哲史, **深澤 壽太郎**, 伊藤岳, 高橋 陽介 “ジベレリン生合成酵素遺伝子 AtGA20ox2 のフィードバック制御機構の解析”
中国四国植物学会第 69 回大会 島根 2012. 5. 12

⑥ **深澤 壽太郎**, 村越 悟, 寺村 浩, 那須野慶, 西田 尚敬, 吉田 充輝, 神谷 勇治, 高橋 陽介, 山口 信次郎 “DELLA - GAF1 complex regulates gibberellin signaling in Arabidopsis.”
日本植物生理学会 第 53 回年会 京都産業大学 2012. 3. 17

⑦ **深澤 壽太郎**, 村越 悟, 寺村 浩, 那須野慶, 西田 尚敬, 吉田 充輝, 神谷 勇治, 高橋 陽介, 山口 信次郎, “ジベレリン信号伝達因子 GAF1 複合体の相互作用機構の解析”
植物化学調節学会第 46 回大会 宇都宮 2011. 11. 1

⑧ 藤木 敬大, 伊藤 岳, **深澤 壽太郎**, 高橋 陽介 “ジベレリン信号伝達に関する転写因子 GAF1 による新たな転写調節モデルの検証”
中国四国植物学会第 68 回大会 香川 2011. 5. 14

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
深澤 壽太郎 (FUKAZAWA JUTAROU)
広島大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号 : 90385550

(2) 研究分担者
()

研究者番号 :

(3) 連携研究者
()

研究者番号 :