

令和 5 年 5 月 1 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06708

研究課題名(和文) ストレスに応答した植物の細胞周期停止を制御する分子基盤の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism controlling cell cycle arrest in response to stress in plant

研究代表者

高橋 直紀 (Takahashi, Naoki)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：40553623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：植物はストレスを受けると、ストレス環境下で生存を維持するために積極的に細胞周期を停止させて自身の成長を抑制する。我々の研究により、NAC型転写因子ANAC044とANAC085が、ストレスに応答したG2期での細胞周期停止に重要な役割を果たしていることを見出している。本研究では、ANAC044、ANAC085の細胞周期停止における役割や、下流の因子群を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ストレスに応答したG2期での細胞周期停止において中心的な役割をするANAC044/085の制御機構を理解することで、植物独自の環境応答統御システムを解明する点に特色を持つ。さらに本研究は、様々なストレスに対する植物の生存戦略の理解に迫るとともに、植物がストレスを認識してから細胞周期停止による成長抑制までの一連の経路を明らかにする点に独自性を持つ。そして、これらの成長制御の指令を担う因子を手掛かりに、農業生産性の向上や環境改善など新たな創造が生まれることが期待されるとともに、バイオ燃料の安定供給に向けたバイオマス植物の開発の基盤技術としての応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：When plants are subjected to stresses, they actively suppress their own growth by arresting the cell cycle to maintain survival in fluctuating environmental conditions. We have previously identified that NAC-type transcription factors, ANAC044 and ANAC085, play crucial roles in the cell cycle arrest at G2 phase in response to stresses. This study has elucidated the regulation of ANAC044 and ANAC085 in cell cycle arrest and revealed the downstream factors regulated by these transcription factors.

研究分野：植物分子生理

キーワード：細胞周期 ストレス

1. 研究開始当初の背景

自由に移動することができる動物とは異なり、植物は一度固着した場所から動くことが出来ない。そのため、植物は環境に応じて積極的に形を変化させることで、外部環境からの様々なストレスに対して柔軟に適應する。そして、植物はストレス環境下でも生存を維持するために、ストレスを受けると細胞周期を停止もしくは遅延させることで自身の成長を積極的に抑制することが知られている。植物のストレスに対する応答機構の理解は、ストレスに対する植物の成長戦略の解明に繋がるのみならず、植物の農業生産性の向上や環境改善に大きく寄与することが期待される。そのことから、植物のストレス応答を分子レベルで明らかにすることは重要な研究課題である。現在までに、乾燥や温度ストレスに関わる因子がいくつか単離され、シグナル伝達経路も明らかにされつつある。しかしながら、ストレスに応答してどのように細胞周期を停止させ、植物の成長を積極的に抑制しているのか、その仕組みについて直接迫ろうとする研究はごく限られている。

2. 研究の目的

植物の DNA は、紫外線や強光、土壌に含まれるアルミニウムやホウ素などの重金属などにより損傷を受けることが知られている。現在までに、植物はこれら DNA 損傷に対して独自の応答機構を持っていることが明らかにされており、植物は DNA 損傷を受けると、植物特異的な NAC 型転写因子 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE (SOG1) が細胞周期停止や幹細胞の細胞死などの DNA 損傷応答を引き起こすことが示されている。そして、最近の我々の研究により、シロイヌナズナでは SOG1 により直接転写誘導される NAC 型転写因子 ANAC044 と ANAC085 が、DNA 損傷に応答した G2 期での細胞周期停止に関わっていることを明らかにしている(図1)。さらに、ANAC044、ANAC085 遺伝子は、DNA 損傷ストレス以外にも、高温ストレス、塩ストレスにも応答して発現が増加することを明らかにしている。これらの結果から、ANAC044、ANAC085 が DNA 損傷、高温ストレス、塩ストレスに応答して G2 期での細胞周期停止を統御する重要な因子であると考えられる。本研究では、ANAC044、ANAC085 を中心とした細胞周期停止の分子メカニズムを明らかにすることで、ストレスに応答した植物の成長抑制機構を理解することを目的に研究を行った。

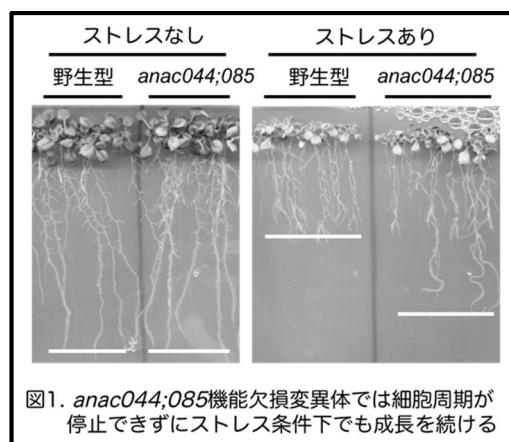


図1. *anac044;085*機能欠損変異体では細胞周期が停止できずにストレス条件下でも成長を続ける

3. 研究の方法

(1) ANAC044 と ANAC085 は、DNA 損傷ストレス、高温ストレス、塩ストレスなど、複数のストレスに応答して発現誘導される。そして、DNA 損傷ストレスを受けた時は、SOG1 転写因子が ANAC044、ANAC085 のプロモーターに直接結合することで、転写を誘導することが明らかにされている。しかし、他のストレスの時も同様に、SOG1 が ANAC044、ANAC085 の転写誘導に関わっているのか、それとも、他の因子が関与しているのかは明らかにされていない。そこで、高温ストレスを与えた時に、SOG1 が ANAC044、ANAC085 の転写誘導に関与しているか調べた。

(2) ANAC044、ANAC085 は、ストレスに応答して転写誘導され、細胞周期を停止させる。そこで、ANAC044、ANAC085 の発現上昇が、細胞周期の停止に十分であるか調べた。

(3) ストレスに応答して ANAC044、ANAC085 は転写誘導され、下流の因子の転写を制御することで細胞周期を停止させる。しかし、ANAC044、ANAC085 の下流でどのような因子の発現が変化することで、細胞周期停止が起きるのかは明らかにされていない。そこで、ゲノムワイドな遺伝子発現解析により、DNA 損傷ストレスに応答して ANAC044、ANAC085 依存的に発現変化する因子を同定した。さらに、それら因子が DNA 損傷ストレスに応答した細胞周期停止に関わっているか調べた。

4. 研究成果

(1) SOG1 が高温ストレスに応答した *ANAC044*、*ANAC085* の発現誘導に関わっているか調べるために、野生型植物および *sog1* 機能欠損変異体を高温ストレス処理し、定量的 RT-PCR により *ANAC044*、*ANAC085* の発現変化を調べた。その結果、*sog1* 変異体では、野生型植物と同程度に高温ストレスによる *ANAC044*、*ANAC085* の発現誘導が起きていた。この結果から、高温ストレスに応答した *ANAC044* と *ANAC085* の発現誘導には SOG1 は関与しておらず、他の因子が転写誘導に関与していることが示唆された。そして、それぞれのストレスに応じて異なる転写因子が *ANAC044*、*ANAC085* の転写誘導に関与している可能性が考えられた。

(2) *ANAC044* もしくは *ANAC085* が単独で細胞周期を停止させることができるか調べるために、*ANAC044* もしくは *ANAC085* の過剰発現体を作成して表現型の解析を行なった。その結果、通常の生育条件下においては、*ANAC044* 過剰発現体、*ANAC085* 過剰発現体は、野生型植物と同程度に成長を続け、細胞周期の停止は起こらないことを明らかにした。このことから、*ANAC044* もしくは *ANAC085* だけでは、細胞周期停止には十分ではないことが考えられた。次に、DNA 損傷が *ANAC044*、*ANAC085* による細胞周期停止に必要であるか調べるために、*ANAC044* 過剰発現体、*ANAC085* 過剰発現体に DNA 損傷ストレスを与えて表現型を解析した。そのところ、*ANAC044* 過剰発現体、*ANAC085* 過剰発現体は、野生型植物と比べて、DNA 損傷ストレスに対して超感受性を示し、早期に細胞周期が停止することを明らかにした。このことから、*ANAC044*、*ANAC085* による細胞周期停止には、DNA 損傷ストレスが必要であることが示唆された。

(3) *ANAC044*、*ANAC085* の下流遺伝子を同定するために、野生型植物および *anac044 anac085* 二重変異体に DNA 損傷処理を行った。全 RNA を抽出後、RNA シーケンス解析により *ANAC044*、*ANAC085* 依存的に発現誘導もしくは発現抑制される遺伝子を同定した。その結果、*ANAC044*、*ANAC085* 依存的に発現誘導される遺伝子群にはストレス応答に関する因子が、発現抑制される遺伝子群には細胞周期制御に関わる因子が含まれていることを明らかにした。次に、*ANAC044*、*ANAC085* の下流因子の DNA 損傷ストレス応答における役割を明らかにするために、*ANAC044*、*ANAC085* の下流遺伝子の機能欠損変異体を単離し、DNA 損傷に対する応答を調べた。その結果、複数の機能欠損変異体が DNA 損傷に対して耐性もしくは感受性を示すことを明らかにした。それら変異体の原因遺伝子を調べたところ、細胞周期制御に関わる遺伝子やエピジェネティクス制御に関わる遺伝子、ストレス応答に関わる遺伝子などがあること発見した。このことから、これら因子が DNA 損傷ストレスに応答した細胞周期進行制御に関わっていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Zhang Xiaojuan, Nomoto Mika, Garcia-Le?n Marta, Takahashi Naoki, Kato Mariko, Yura Kei, Umeda Masaaki, Rubio Vicente, Tada Yasuomi, Furumoto Tsuyoshi, Aoyama Takashi, Tsuge Tomohiko	4. 巻 63
2. 論文標題 CFI 25 Subunit of Cleavage Factor I is Important for Maintaining the Diversity of 3' UTR Lengths in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 369 ~ 383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac002	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 該当する

1. 著者名 Inada Noriko, Takahashi Naoki, Umeda Masaaki	4. 巻 134
2. 論文標題 Arabidopsis thaliana subclass I ACTIN DEPOLYMERIZING FACTORS and vegetative ACTIN2/8 are novel regulators of endoreplication	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 1291 ~ 1300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-021-01333-0	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 Takahashi Naoki, Inagaki Soichi, Nishimura Kohei, Sakakibara Hitoshi, Antoniadis Ioanna, Karady Michal, Ljung Karin, Umeda Masaaki	4. 巻 7
2. 論文標題 Alterations in hormonal signals spatially coordinate distinct responses to DNA double-strand breaks in Arabidopsis roots	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabg0993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abg0993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Shimotohno Akie, Aki Shiori S., Takahashi Naoki, Umeda Masaaki	4. 巻 72
2. 論文標題 Regulation of the Plant Cell Cycle in Response to Hormones and the Environment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annual Review of Plant Biology	6. 最初と最後の頁 273 ~ 296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1146/annurev-arplant-080720-103739	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 Takahashi Naoki, Umeda Masaaki	4. 巻 39
2. 論文標題 Brassinosteroids are required for efficient root tip regeneration in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 73 ~ 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.21.1103a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Zhang Xiao Long, Wu Qi, Tao Ye, Zhu Xiao Fang, Takahashi Naoki, Umeda Masaaki, Shen Ren Fang, Ma Jian Feng	4. 巻 185
2. 論文標題 ANAC044 is associated with P reutilization in P deficient Arabidopsis thaliana root cell wall in an ethylene dependent manner	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental and Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 104386 ~ 104386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envexpbot.2021.104386	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 該当する

1. 著者名 Shimotohno Akie, Aki Shiori S., Takahashi Naoki, Umeda Masaaki	4. 巻 72
2. 論文標題 Regulation of the Plant Cell Cycle in Response to Hormones and the Environment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annual Review of Plant Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1146/annurev-arplant-080720-103739	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 Watanabe Shunsuke, Takahashi Naoki, Kanno Yuri, Suzuki Hiromi, Aoi Yuki, Takeda-Kamiya Noriko, Toyooka Kiminori, Kasahara Hiroyuki, Hayashi Ken-ichiro, Umeda Masaaki, Seo Mitsunori	4. 巻 117
2. 論文標題 The Arabidopsis NRT1/PTR FAMILY protein NPF7.3/NRT1.5 is an indole-3-butyric acid transporter involved in root gravitropism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 31500 ~ 31509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2013305117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshiyama Kaoru Okamoto, Aoshima Naoki, Takahashi Naoki, Sakamoto Tomoaki, Hiruma Kei, Saijo Yusuke, Hidema Jun, Umeda Masaaki, Kimura Seisuke	4. 巻 103
2. 論文標題 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 acts as a regulator coordinating crosstalk between DNA damage response and immune response in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 321 ~ 340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11103-020-00994-0	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 Naoki Takahashi, Masaaki Umeda	4. 巻 -
2. 論文標題 Measurement of root growth and cell death area in the root tip using Arabidopsis seedlings that grow under DNA stress.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bio-protocol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Takahashi N, Ogita N, Takahashi T, Taniguchi S, Tanaka M, Seki M, Umeda M	4. 巻 8
2. 論文標題 A regulatory module controlling stress-induced cell cycle arrest in Arabidopsis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Elife	6. 最初と最後の頁 e43944
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.43944	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshiyama KO, Aoshima N, Takahashi N, Sakamoto T, Hiruma K, Saijo Y, Hidema J, Umeda M, Kimura S	4. 巻 -
2. 論文標題 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 acts as a regulator coordinating crosstalk between DNA damage response and immune response in Arabidopsis thaliana.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11103-020-00994-0	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 Umeda M, Aki SS, Takahashi N	4. 巻 51
2. 論文標題 Gap 2 phase: making the fundamental decision to divide or not.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Curr Opin Plant Biol	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pbi.2019.03.001	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 高橋直紀、梅田正明	4. 巻 11
2. 論文標題 ストレスに応答した植物の細胞周期停止機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BSJ-Review	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24480/bsj-review.11b2.00184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Naoki Takahashi, Ioanna Antoniadis, Michal Karady, Karin Ljung, Masaaki Umeda
2. 発表標題 Cytokinin and auxin orchestrate distinct DNA damage responses in Arabidopsis roots
3. 学会等名 国際シンポジウム「Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants」(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoki Takahashi, Masaaki Umeda
2. 発表標題 AUX/IAA-mediated suppression of auxin signaling causes stem cell death in response to DNA damage
3. 学会等名 International Conference on Arabidopsis Research (ICAR) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoki Takahashi、Masaaki Umeda
2. 発表標題 Brassinosteroids promote reestablishment of the stem cell niche in resected roots
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyabi Arashidani、Ye Zhang、Naoki Takahashi、Masaaki Umeda
2. 発表標題 Role of R1R2R3-type Myb transcription factors in auxin-mediated control of the cell cycle
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Minoru Hosoya、Naoki Takahashi、Masaaki Umeda
2. 発表標題 Regulatory mechanism of cell cycle arrest in response to DNA damage
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoki Takahashi、Saki Yoshikuni、Masaaki Umeda
2. 発表標題 Role of indole-3-butyric acid (IBA) transport in DNA damage response
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuki Suita, Naoki Takahashi, Masaaki Umeda
2. 発表標題 Stem cell replenishment in Arabidopsis roots under DNA stress
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋直紀、Ioanna Antoniadis、Michal Karady、Karin Ljung、梅田正明
2. 発表標題 DNA損傷に反応した根の成長抑制におけるサイトカイニン合成の役割
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋直紀、梅田正明
2. 発表標題 植物のストレスに反応した細胞分裂制御
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoki Takahashi, Nobuo Ogita, Tomonobu Takahashi, Shoji Taniguchi, Masaaki Umeda
2. 発表標題 ANAC044 and ANAC085 arrest the cell cycle to cope with stresses in Arabidopsis
3. 学会等名 TFC国際シンポジウム[Principles of pluripotent stem cells underlying plant vitality]
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoki Takahashi, Masaaki Umeda
2. 発表標題 Regulatory mechanism of stem cell maintenance in Arabidopsis roots
3. 学会等名 第61回日本植物生理 学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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