

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20780239

研究課題名(和文)

核小体に局在するヒストン脱アセチル化酵素と葉の形成

研究課題名(英文)

The nucleolar histone deacetylases involved in leaf development

研究代表者：

上野 宜久 (Yoshihisa Ueno)

名古屋大学・理学研究科・助教

研究者番号：20335011

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナの AS2/LOB ドメインタンパク質 ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) および核小体局在型ヒストン脱アセチル化酵素 HDT1/2 は、共同して葉の形態の決定に関わる。しかし、その分子機構は不明な点が多い。本研究では、点変異型 AS2 と HDT1/2 を解析した。前者の解析から、AS2 タンパク質は、AS2/LOB ドメインにより Myb ドメインタンパク質 AS1 の N 末端側を含むヘテロ四量体以上の複合体を構成することが、その機能に必須であることがわかった。AS1-AS2 複合体は、HDT1/2 が局在する核小体に隣接する顆粒状構造体に局在する。HDT1/2 の局在制御機構の解析を続けることで、AS1-AS2 複合体と HDT1/2 の働きのメカニズムを明らかにできると期待できる。

研究成果の概要(英文)：The AS2/LOB-domain protein, ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2), and nucleolar localized histone deacetylases, HDT1/2, are involved in the determination of leaf shape in Arabidopsis. However, the molecular mechanisms underlying these phenomena are largely unknown. I investigated the functions of missense mutants of AS2 and HDT1/2 proteins. The missense mutants of AS2 revealed that the in vivo function of AS2 required the formation of hetero-tetramer including the N-termini of AS1 through the AS2/LOB-domain. The AS1-AS2 complex localizes the speckled bodies adjacent nucleoli, in which HDT1/2 localize. The analyses of HDT1/2 provide the further understanding of the mechanism underlying the synergistic interaction between the AS1-AS2 complex and HDT1/2.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：発生・分化制御

1. 研究開始当初の背景

葉の形態の決定機構を理解することは、植物の利用において基礎的な知見を提供する。しかしその分子機構はあまりよくわかっていない。私たちはシロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) および HDT1/2 が共同して、葉の表側の形成に関わ

ることを分子遺伝学的に見いだしていた。AS2 は AS2/LOB ファミリーに、HDT1/2 は HD2 ファミリーに、それぞれ属するいずれも植物特異的タンパク質である。AS2/LOB ファミリータンパク質群は、私たちが AS2 を、また同時に Springer 博士らが LATERAL ORGAN BOUNDARIES (LOB) をそれぞれ

同定することで見いだされた、転写制御に関わる新しい核内タンパク質群である。HD2ファミリータンパク質群は核小体に局在するヒストン脱アセチル化酵素である。

2. 研究の目的

本課題では、AS2とHDT1/2による葉の形態の決定機構の解明を最終的な目標とした。この目的には、単純な遺伝学的アプローチは限界に近づきつつあり、本研究ではそれぞれのタンパク質分子に着目した分子生物学的アプローチにより、とりわけ、HDT1/2タンパク質に重点をおいた計画により、これを指した。

3. 研究の方法

AS2タンパク質：(HDT1/2に重点をおいたため)申請時には詳細を記載していないが、点変異型AS2を取得し、解析した。
HDT1/2タンパク質：誘導的にGFPを融合したHDT1/2タンパク質を発現する形質転換体とそれぞれの変異体を作成/取得し、これを解析することで、主に細胞内局在制御機構を調査することを目指した。

4. 研究成果

主眼をおいていたHDT1/2の解析に関しては、目的の形質転換体と変異体の取得まではできたが、まだ十分な解析にはいたっていない。しかし、点変異型AS2の解析から予想以上の進展があったので、こちらを以下に報告する。点変異型AS2を複数取得し、それぞれにおいて形質転換体を作成することでその機能を検証した。その結果、以下のことがわかった。
1) AS2はN末端側にあるAS2/LOBドメインによりAS1(Mybドメインタンパク質)のNおよびC末端側のいずれにも独立に相互作用した。
2) AS2とAS1のN末端側との相互作用は、葉の形態決定の役割において必須であった。
3) AS2はAS2/LOBドメインにより自身と相互作用し、二量体以上(AS1を含めるとヘテロ四量体以上)の複合体を形成すると考えられた。
4) AS2のC末端側のユニークな領域はホモ二量体化を促進または安定化する機能を持ち、おそらくそれ以外の機能はないと考えられた。
5) AS2とAS1の発現パターン(領域)は異なるが、非常に限られた領域で両者が発現している。AS2タンパク質が細胞間移行する証拠はつかめず、AS2とAS1の相互作用は、重複して発現する領域で起きることが葉の形態決定には必要十分であると考えられた。

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3件)

*Ueno, Y. and Springer, P. (2011) Molecular genetic studies on ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) of Arabidopsis: Insight into the function of the AS2 protein. *Plant Morphology* in press 招待総説

Tabata, R., Ikezaki, M., Fujibe, T., Aida, M., Tian, C.E., Ueno, Y., Yamamoto, K.T., Machida, Y., Nakamura, K., and *Ishiguro, S. (2010) Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR6 and 8 Regulate Jasmonic Acid Biosynthesis and Floral Organ Development via Repression of Class 1 KNOX Genes. *Plant Cell Physiol.* 51 (1), 164-175. 査読付き原著論文

Ikezaki, M., Kojima, M., Sakakibara, H., Kojima, S., Ueno, Y., Machida, C., and *Machida Y. (2010) Genetic networks regulated by ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) and AS2 in leaf development in Arabidopsis thaliana: KNOX genes control five morphological events. *Plant J.* 61 (1), 70-82. 査読付き原著論文

*Corresponding author

[学会発表] (計11件)

上野宜久, 杉山将宏, 川端真一, 岩川秀和, 石川貴章, 町田千代子, 町田泰則(2008)「シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2)タンパク質がAS1タンパク質と相互作用するのに必要なアミノ酸残基はAS2/LOBドメイン内にある」日本植物学会第72回大会(2008年9月25日—27日、高知) 3aG03 口頭発表

上野宜久, 杉山将宏, 川端真一, 町田千代子, 町田泰則(2009)「ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)とAS2による葉の形成とmicroRNAの制御」第50回日本植物生理学会年会シンポジウム S-06 表現型と遺伝子型の接点を探るRNA研究(2009年3月21-24日、名古屋) 招待講演

上野宜久, 杉山将宏, 川端真一, 町田千代子, 町田泰則(2009)「シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)とAS2による葉の形成とmicroRNAの制御」第9回日本分子生物学会春季シンポジウム(5/10-12、宮崎) ポスター発表

上野宜久、杉山将宏、川端真一、岩川秀和、町田千代子、町田泰則 (2009) 「シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) と AS2 による葉の形成と microRNA の制御」第 11 回日本 RNA 学会 (朱鷺メッセ、新潟、7/27-29) O-29 要旨集 p58 口頭発表に選抜

上野宜久、杉山将宏、川端真一、岩川秀和、町田千代子、町田泰則 (2009) 「シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) と AS2 による葉の形成と microRNA の制御」日本植物形態学会第 21 回総会・大会 (2009 年 9 月 17 日、山形大学) ポスター発表 19

上野宜久、杉山将宏、川端真一、岩川秀和、町田千代子、町田泰則 (2009) 「シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) と AS2 による葉の形成と microRNA の制御」日本植物学会第 73 回大会 (2009 年 9 月 17 日~20 日、山形大学) ポスター発表 P2-158 要旨集 p225

上野宜久、杉山将宏、川端真一、岩川秀和、町田千代子、町田泰則 (2009) 「シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) と AS2 による葉の形成と microRNA の制御」第 82 回日本生化学会大会 (10/21-24、神戸) 3T18a-13 口頭発表に選抜

上野宜久、杉山将宏、川端真一、町田千代子、町田泰則 (2010) 「シロイヌナズナの葉の形成と microRNA の発現の制御に関わる AS1 および AS2 タンパク質の相互作用」第 74 回日本生化学会中部支部例会およびシンポジウム (5/29、名古屋大学医学部) P36 ポスター発表

上野宜久 (2010) 「シロイヌナズナの葉の形成に関わる ASYMMETRIC LEAVES2 の解析」日本植物形態学会第 22 回大会 (9/8、春日井市) 受賞講演

上野宜久、杉山将宏、川端真一、町田千代子、町田泰則 (2010) 「シロイヌナズナの葉の形成と microRNA の発現制御に関わる AS1 および AS2 タンパク質の相互作用」日本植物学会第 74 回大会 (9 月 9 日~12 日、中部大学) ポスター発表

上野宜久、杉山将宏、川端真一、町田泰則 (2011) 「シロイヌナズナの葉の形成と microRNA の発現制御に関わる AS1 および AS2 タンパク質の相互作用」第 51 回日本植物生理学会年会 (仙台) 要旨集

〔図書〕 (計 1 件)

*上野宜久、町田千代子 (2008) small RNA とヒストン修飾による葉の形態形成.細胞工学別冊、植物細胞工学シリーズ 24 植物のエピジェネティクス (島本功、飯田滋、角谷徹仁 監修) pp96-105. 秀潤社、東京 ISBN978-4-87962-367-6

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕 (計 1 件)

日本植物形態学会 奨励賞 (2010 年 9 月)

6. 研究組織

(1) 研究代表者：上野宜久
()

研究者番号：20335011

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

