論文内容の要旨

申請者氏名 Aida Nazlyn Binti Nazari

植物は通常の細胞分裂過程で生じる DNA 損傷とともに、光合成や外的ストレスにより生じる活性酸素などで常にゲノムに損傷を負っている。そのため、いかにゲノムを DNA 損傷から守るかは非常に重要な課題である。これまでの研究により、植物においてはクロマチン構造が緩和すると DNA 損傷を受けやすくなり、ゲノム安定性が低下することが示唆されていた。また、植物ホルモンの一つであるオーキシンがゲノムを DNA 損傷から守る役割をもち、オーキシシグナルが低下すると DNA 損傷応答の一つである幹細胞死が誘発されることも明らかにされていた。これらの知見から、オーキシンがクロマチン構造を凝縮させる効果をもち、それによりゲノム安定性を維持する役割をもつという仮説が考えられた。そこで本研究は、オーキシンが実際にクロマチン構造を制御しているのか、またどのような機構でクロマチン構造を制御しているかを明らかにすることを目的として行われた。

申請者はシロイヌナズナを用い、セントロメア周辺のヘテロクロマチン構造について FISH 解析および DAPI 解析を行い、オーキシンがヘテロクロマチン構造を凝縮させる働きをもつことを明らかにした。次に、クロマチン構造を制御するエピジェネティック修飾について調べたところ、ヒストン H3 の 9 番目のリシンのアセチル化 (H3K9ac) のレベルがオーキシシグナル欠損変異体で上がっていたことから、オーキシンは H3K9ac を抑制することでクロマチンを凝縮させる可能性が考えられた。そこで、シロイヌナズナのゲノムにコードされている 18 種のヒストン脱アセチル化酵素遺伝子 (*HDA*) の発現解析を行ったところ、*HDA18* がオーキシンに対して顕著な正の発現応答を示すことを見出した。そこで、*hda18* 機能欠損変異体を単離し表現型解析を行ったところ、野生型植物に比べてヘテロクロマチンが緩和している様子が観察された。以上の結果より、オーキシンは *HDA18* の発現を誘導することにより H3K9ac を抑制し、クロマチン構造を凝縮させることが示唆された。

さらに申請者は、オーキシンによる *HDA18* の発現制御がゲノムの恒常性維持に果たす役割を明らかにするため、*hda18* 変異体を用いて DNA 損傷により誘発される幹細胞死の様子を観察した。その結果、*hda18* 変異体では野生型植物に比べ、茎頂分裂組織内の広い領域で幹細胞死が観察されたことから、*hda18* 変異体は DNA 損傷に対して高感受性を示すことが明らかになった。また、野生型植物で見られるオーキシン処理による幹細胞死の抑圧が *hda18* 変異体では観察されなかったことから、オーキシンによる幹細胞死の抑制は *HDA18* を介して行われていることが示唆された。以上の結果から、オーキシンによる *HDA18* の発現制御が、クロマチン構造の制御とゲノム恒常性の維持に重要な役割を果たすことが明らかになった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Aida Nazlyn Binti Nazari

植物の DNA は内的・外的要因により常に損傷を受けているが、DNA 損傷に対して様々な応答機構を発動することで、ゲノムの恒常性を維持している。その中でも、茎頂および根端分裂組織に存在する幹細胞は、DNA 損傷に対して積極的に細胞死を起こすという特徴的な応答反応を示す。この細胞死がどのように制御されているかは未だに不明な点が多いが、これまでの研究により、オーキシニンシグナルが低下することによりゲノムにさらに重篤な DNA 損傷が入り、幹細胞死が誘導されることが明らかになっている。一方で、クロマチンが緩和しているシロイヌナズナ変異体ではゲノム安定性が低下することも明らかになっていることから、オーキシンはクロマチンを凝縮させることによりゲノムの恒常性維持に関与している可能性が考えられた。しかし、オーキシンも含めて、植物ホルモンによる直接的なクロマチン構造の制御という観点からの研究はほとんど進んでおらず、未知の部分が多かった。

申請者は、FISH 解析や DAPI 解析といった細胞生物学的解析を通じ、オーキシニンシグナリングが低下したシロイヌナズナ変異体ではヘテロクロマチンが緩和していることを見出した。一方、オーキシン処理によりヘテロクロマチンの凝縮が起こることも明らかにした。これらの結果から、オーキシンがクロマチン構造を実際に凝縮させる働きをもつことが示唆された。オーキシンについては、特定の遺伝子発現の制御という観点から多くの研究が為されてきたが、クロマチン構造の全般的な制御という観点からの知見はなく、本研究成果は新規性の高い発見である。また申請者は、オーキシンがヒストン H3 の 9 番目のリシンのアセチル化 (H3K9ac) を阻害することによりクロマチン構造を凝縮させることを明らかにした。さらに、H3K9ac レベルの制御に中心的な役割を果たすヒストン脱アセチル化酵素 (HDA) について解析したところ、シロイヌナズナがもつ 18 個の *HDA* 遺伝子のうち、*HDA18* の発現がオーキシンにより顕著に誘導されることを見出した。そこで、*hda18* 変異体を用いた表現型解析を進めたところ、オーキシンは *HDA18* の発現を誘導することによりクロマチン構造を凝縮させ、ゲノムの恒常性維持に積極的に関与していることを見出した。このように、申請者はクロマチン・細胞・組織の各レベルでオーキシンの生理的役割を多面的に解析することにより、ゲノムの恒常性維持という植物生存にとって極めて重要な事象でありながら未だ未解明な部分が多い課題に対して新規な制御系を提唱し、植物ホルモンの新たな生理機能を明らかにするに至った。

以上のように、本論文はオーキシンによるクロマチン構造の制御機構を明らかにしただけでなく、植物のゲノム安定性制御に関して重要な知見を提供するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。