【解説】

ジベレリンシグナル伝達の鍵因子 DELLA タンパク質の転写活性化機構

吉田英樹, 上口(田中)美弥子

植物ホルモンとは光やストレスなどの環境要因に適応するように植物の成長を制御している物質である。その植物ホルモンの一つであるジベレリン (gibberellin; GA) は植物細胞の伸長や、種子の発芽、開花などの多様な発達過程の制御を司っている。GAの生理作用はDELLAタンパク質と呼ばれる植物固有の転写因子様タンパク質によって抑制されており、このDELLAがGA依存的に分解されることでGAの生理作用が誘導されることがわかっている。これまでの研究によりDELLAがどのように分解されるのかについては、かなりの部分が明らかになっているのに対し、DELLAがどのように機能しているのかについてはいまだ明らかになっていない部分が多い。本稿では、まずGAシグナルとその抑制因子DELLAについての概略を説明し、その後、現在提唱されているDELLAの2つの主な作用機序について具体例を挙げつつ解説する。特に最近筆者らを含め多くの研究者によってその存在が確かなものになった転写活性化因子としての作用に焦点を当てる。

はじめに

ジベレリン (gibberellin; GA) はジテルペノイド化合物であり、黒沢英一らにより1926年にイネ馬廐苗病菌によるイネの異常な伸長を引き起こす原因物質として発見され、ついで1935年に薮田貞治郎らによって単離、命名された。その後植物自身もGAを産生することがわかり、植物ホルモンの仲間入りをした。内生GAは茎の伸長や花芽誘導、性決定など植物のさまざまな発達過程を調節している。これらの生理作用は農業上も非常に重要であり、GAと農業の発展は密接に結びついている。その中で最も有名なものが「緑の革命」である。これは1900年代半ばに穀類において半矮性の植物が作出されたことにより、化学肥料を大量に使用しても倒れにくくなり、その結果生産量を飛躍的に増大させることに成功したことを指す。「緑の革命」に用いたイネおよび小麦の半矮性系統はそれぞれGA生合成酵素やシグナル伝達因子の変異体であったことが、後の研究によって明らかになっている^(1, 2)。

The Transactivation Activity of DELLA Protein, a Key Regulator in Gibberellin Signaling
Hideki YOSHIDA, Miyako UEGUCHI-TANAKA, 名古屋大学生物機能開発利用研究センター

図1 ■ GA-GID1複合体によるDELLAの分解

GAは細胞核内で受容体であるGID1に受容される。GA-GID1複合体はDELLAタンパク質と結合し、SCF複合体によるユビキチン化を誘導した結果、DELLAのGA依存的な分解を導く。

表1 ■ DELLAが結合することでその作用が阻害される主な転写因子

転写因子	ファミリー	生理作用
PIFs	bHLH	胚軸の細胞伸長 ^(3, 4) カロテノイド、クロロフィル合成 ⁽²³⁾
ALC	bHLH	莖での細胞分化 ⁽²⁴⁾
SPLs	SBP-box	栄養成長から生殖成長への転換 ⁽²⁵⁾
EIN3	EIL	Apical hookの形成 ⁽²⁶⁾
BZR1	BES/BZR1	胚軸の細胞伸長 ⁽²⁷⁾
MYC2	MYC2	セスキテルペンの生合成 ⁽⁶⁾
GL3, EGL3	bHLH	Trichomeの形成 ⁽²⁸⁾
GL1	MYB	Trichomeの形成 ⁽²⁸⁾
ARFs	ARF	胚軸の細胞伸長 ⁽²⁹⁾
TCPs	TCP	茎頂での細胞分裂 ⁽³⁰⁾
SCL22, 27	GRAS	クロロフィル合成 ⁽³¹⁾
ATML1, PDF2	HD-ZIP	吸水による発芽誘導 ⁽³²⁾

GAシグナル伝達とDELLAタンパク質

このように非常に重要な植物ホルモンであるGAがどのように受容され、シグナルが伝達されるのかについて数多くの研究によってその詳細が明らかにされつつある。その中で最も重要な因子の一つと考えられているのがDELLAタンパク質である。DELLAは今までに植物でのみ見いだされており、GRASファミリーに属する転写因子様タンパク質である。C末端側にGRASファミリーに共通のGRASドメインを、N末端側にDELLAタンパク質に特徴的なDELLAモチーフとTVHYNPモチーフをもつ。このDELLAの主な機能はGA応答の抑制である。細胞内でGAはまず核内受容体であるGID1に受容される。GA-GID1複合体は核内でDELLA/TVHYNPモチーフを介してDELLAタンパク質と結合し、SCF複合体によるDELLAのユビキチン化を誘導、最終的に26Sプロテアソームによって分解される。このような機構でGA依存的にDELLAが分解されることでさまざまなGAの生理作用が発揮されると考えられてい

る(図1)。これまでの研究により、GID1をはじめとするDELLAの分解にかかわるいくつかの因子、およびその分解機構が明らかとなってきた。その一方で、DELLA自体がどのような分子メカニズムで機能を発揮しているのかについてはいまだ不明な点が多い。これまでの研究から、DELLAタンパク質がさまざまな遺伝子の転写を調節すること、明確なDNA結合モチーフをもたないことなどからDELLAの機能として主に2つの機能が提唱されている。本稿では、その2つの機能について具体的な知見を踏まえ紹介する。特に最近になって多くの知見が得られた転写活性化因子としての機能について筆者らの研究も含め解説する。

DELLAは転写因子と結合し、そのDNA結合能を阻害する

2008年、de LucasらおよびFengらは植物の胚軸伸長を促進する転写因子であるPIFタンパク質がDELLAと直接結合すること、その結果PIFのDNA結合能が失われること、そしてPIFの過剰発現はDELLAの蓄積による矮化を回復させることを見いだした^(3, 4)。これらの結果から、DELLAはPIFと直接結合することで、PIFとその下流遺伝子のプロモーター領域の結合を阻害し、胚軸伸長を抑制するという機能があることを証明した。これ以降も複数のファミリーに属する数多くの転写因子がそのDNA結合が阻害される形でDELLAおよびGAの制御を受けた結果、さまざまなGAの生理作用を引き起こすことが見いだされている。その主なものが表1にまとめられている。

この中で特殊なものとしてJAZおよびMYC2との関係がある。両者とも植物ホルモンの一つであるジャスモン酸のシグナル伝達上で機能する因子で、MYC2は転写因子としてジャスモン酸シグナル伝達を促進する。一方で、JAZがMYC2に結合するとMYC2との活性が阻害

され、シグナル伝達は抑制される。現在、DELLAはJAZともMYC2とも複合体を形成することが報告されており、JAZと結合した場合はJAZ-MYC2結合を阻害し、MYC2の活性を促進すること、逆にMYC2と結合した場合はPIF等と同様MYC2とDNAの結合を阻害することが報告されている⁽⁵⁾。DELLAがJAZとMYC2のどちらと結合するかは組織や環境要因によって変動すると考えられている^(5, 6)。これらのことを踏まえ、筆者はDELLAが組織やタイミングごとに特定のタンパク質と結合していることがGAのさまざまな生理作用を生み出す一つの大きな機構であると考えており、DELLAの下流遺伝子を調べたトランスクリプトーム解析においても組織や生育のタイミングが違うものでは結果がほとんど一致しないことがわかっている⁽⁷⁾。

DELLAは転写因子と結合し、DNAと結合して転写を活性化する

前述の知見に加え、DELLA自身が強い転写活性化能を有していることも明らかとなっており、転写活性化因子として機能することも示唆されていた。また、ZentellaらによってデキサメタゾンによるDELLA誘導系を用いたトランスクリプトーム解析とChIPアッセイが行われた結果、DELLAが直接転写を促進する遺伝子としてGAの合成酵素や受容体などのGAシグナル伝達を促進する因子が多く含まれていることがわかり、DELLAはその転写活性化能によってGAシグナル伝達のフィードバックを担っていることも予想されていた⁽⁸⁾。

筆者らはモデル植物であるシロイヌナズナにおいて、このDELLAによるフィードバック作用を仲介する転写因子を同定することを目的とし、酵母2ハイブリッド法および1ハイブリッド法を組み合わせたスクリーニングを行った⁽⁹⁾。その結果、C2H2型のzinc fingerをもつIDDファミリータンパク質に属するAtIDD3, 4, 5, 9, 10がDELLAと結合し、さらにDELLAのダイレクターゲットの一つであり、GAシグナル伝達のポジティブレギュレーターでもあるSCL3遺伝子のプロモーターにも結合することを明らかにした。

つづいてシロイヌナズナ培養細胞由来のプロトプラストを用いてトランジェントレポーターアッセイを行ったところ、DELLAとIDDは相乗的にSCL3の発現を上昇させることが示された。さらに、IDDが植物体内でどのような機能をもっているのか調べるため、IDDに転写抑制ドメインであるSRDXを付加したキメラタンパク質を過剰発現させた形質転換シロイヌナズナを作出した。その植物体は矮性、花成の遅延などのGAシグナル伝達

表2 ■ DELLAとDNAの結合を仲介する転写因子

転写因子	ファミリー	生理作用
IDDs	C2H2	GAシグナルのフィードバック ^(9, 14)
ABI3, 5	ABI	温度による発芽調節 ⁽³³⁾
SPLs	SBP-box	花芽形成のための運命決定 ⁽³⁴⁾

が抑制された表現形を示した。このことはIDD-SRDXタンパク質がDELLA-IDD複合体による下流遺伝子の発現促進を阻害した結果、正常なフィードバック作用が失われたことによると考えられた。GAによって転写が促進される遺伝子の発現がIDD-SRDXの過剰発現によって低下していたこともこの考察を支持している。

以上のことより、DELLAがIDDを介してDNAと結合して転写活性化能を発揮すること、そして下流遺伝子の発現を促進することによってGAシグナル伝達のフィードバック作用を担っていることがわかった。

IDDファミリーは最初、トウモロコシにおいて花成の誘導を制御する転写因子として見いだされた。このファミリーは高等植物において広く保存されているファミリーであり、花成誘導以外にもオーキシンシグナルや重力屈性などさまざまな発達過程にかかわっていることが知られている⁽¹⁰⁻¹²⁾。今回筆者らが見いだしたGAのフィードバックにかかわるという機能はIDDの多様な機能のうちの一つであろうと思われる。

筆者らの報告に前後していくつかのほかのグループによってもDELLAがほかの転写因子を介してDNAと結合して転写を調節することを示す研究結果が報告されており(表2)、DELLAは転写因子の働きを阻害する作用のみならず、co-activatorとして働く作用ももっていることを裏づけている。

Co-regulator exchange system

筆者らはDELLAのターゲット遺伝子の一つであるSCL3に着目してさらに研究を進めた。以前の研究によってSCL3タンパク質については、1) DELLAと同じGRASファミリーに属していること、2) DELLAと拮抗して働くGAシグナル伝達のポジティブレギュレーターであること、3) SCL3自身の転写を抑制する転写抑制因子であることが明らかになっていた⁽¹³⁾。筆者らはこれらの知見から、SCL3タンパク質もIDDと結合するのではないか、そしてDELLAとSCL3はプロモーター上でIDDを取り合うように結合することで下流遺伝子の発現を調節しているのではないかと仮説を立てた。それを検証する目的でまずSCL3とIDDの結合を検

証したところ *in vitro* および *in vivo* でタンパク質-タンパク質相互作用があることが確かめられた。つづいて、酵母3ハイブリット法および共免疫沈降法により DELLA, SCL3, IDD の関係を調べたところ、三者は一つの複合体を形成するのではなく、DELLA-IDD または SCL3-IDD のどちらか一方にしかならないことを見いだした。さらに転写調節においては DELLA-IDD 複合体の転写活性化能が、SCL3 を共発現することによって抑制されることを明らかにした。

以上の実験により DELLA は co-activator として、SCL3 は co-repressor としてそれぞれ IDD を介して DNA と結合し、下流遺伝子の発現を制御するという co-regulator exchange system によって GA シグナル伝達の恒常性が維持されていると考えられた (図2)。同様の研究が深澤らによってなされており、同じく IDD ファミリーに属する AtIDD1 および GAF1/AtIDD2 も DELLA と GA 合成酵素および受容体のプロモーターの結合を仲介していること、また DELLA と拮抗して TOPLESS RELATED タンパク質が co-repressor として機能していることが明らかとなっている⁽¹⁴⁾。このシステムは動物および酵母では盛んに研究が行われている概念であるが^(15, 16)、植物においてはこれまでほとんど報告がなかった。しかし、この制御システムは転写、翻訳を介して新たな転写調節因子を作り出すよりも早く下流遺伝子の発現を調節できるシステムであり、外界の環境に応じ、瞬時に体内環境を変化させるシステムとして優れていると考えられているため⁽¹⁶⁾、今後はこの概念を踏まえて研究がなされることで植物の多くのシグナル伝達上で同様のシステムの存在が明らかになると筆者らは考えている。

GA シグナルおよび DELLA タンパク質研究のこれから

これまでの研究により GA シグナル伝達において DELLA タンパク質がどの組織、どのタイミングで、どの転写因子と結合しているかが GA の多様な生理作用を説明できることが明らかになりつつある。そしてその DELLA は主に転写因子と結合して機能を阻害する、あるいは結合した転写因子とともに複合体としてプロモーターに結合し、転写を促進するという2つの作用機序があることが示された。表1、表2に掲げた DELLA 結合転写因子の中には PIF や EIN3, BZR1 などこれまでほかのシグナル伝達上で重要な機能をもっていると考えられている因子が複数含まれており、GA シグナルとほかの転写因子のクロストークも DELLA が他の因子と結合す

図2 ■ Co-regulator exchange system による GA フィードバックの制御

DELLA-IDD 複合体により SCL3 をはじめとした GA シグナルのポジティブレギュレーターが発現が促進され、GA シグナル伝達のフィードバック作用が起こっている。その作用によって SCL3 タンパク質が増加し、SCL3-IDD 複合体が増え、SCL3 自身の転写を抑制することで DELLA による GA シグナルのフィードバックにさらにフィードバックが働いていると考えられる。

るということが重要であると思われる。しかし、いまだすべての GA 応答を説明できたわけではなく、これ以降も DELLA 結合転写因子の同定、解析は必要であろう。さらにはバラの DELLA が DNA と直接結合するという報告⁽¹⁷⁾や、微小管の配向を決めるシャペロンタンパク質と結合するという報告⁽¹⁸⁾、また DELLA が RING FINGER タンパク質と結合することで co-repressor として働くという報告⁽¹⁹⁾などこれまで解説してきたものの以外の機能も複数示唆されており、いまだ DELLA の機能および GA シグナルの全容解明にはほど遠いというのが現状の筆者の認識である。

DELLA の転写活性化の実態、すなわちヒストンの修飾などを変更するエピゲノム調節やメディエーター複合体などと DELLA の関係を追求することも、DELLA の機能を正しく理解するうえで重要であろうと思われる。最近クロマチンリモデリング複合体のサブユニットの1つである ATPase, SWI3C と DELLA が結合し、DELLA の転写活性化能に寄与しているという報告がなされている⁽²⁰⁾。タンパク質の結晶構造解析という方面からも GA シグナルの解明が試みられており、受容体である GID1 の結晶構造が得られている (詳細は本誌 Vol. 49, No. 3 を参照されたい)。今後 DELLA タンパク質全体の構造が判明すれば、その機能についての理解も深まると思われる。GA シグナルについて数理モデルを立て、システムバイオロジーによる解析を行っている報告もあり^(21, 22)、今後はこのような多種多様な戦略で GA シグナルの全容解明に向け多くの知見が集まることが期待される。一方で、これまでの DELLA の機能にかかわる研究はほぼすべてモデル植物であるシロイヌナズナで行われたものであり、ほかの植物では DELLA と結合する転写因子の報告もほとんどない。今後はほかの植物種でも DELLA とその相互作用因子の研究が進むことで、より多くの重要な知見が得られることを期待している。

文献

- 1) J. Peng, D. E. Richards, N. M. Hartley, G. P. Murphy, K. M. Devos, J. E. Flintham, J. Beales, L. J. Fish, A. J. Worland, F. Pelica *et al.*: *Nature*, **400**, 256 (1999).
- 2) A. Sasaki, M. Ashikari, M. Ueguchi-Tanaka, H. Itoh, A. Nishimura, D. Swapan, K. Ishiyama, T. Saito, M. Kobayashi, G. S. Khush *et al.*: *Nature*, **416**, 701 (2002).
- 3) M. de Lucas, J. M. Davière, M. Rodríguez-Falcón, M. Pontin, J. M. Iglesias-Pedraz, S. Lorrain, C. Fankhauser, M. A. Blázquez, E. Titarenko & S. Prat: *Nature*, **451**, 480 (2008).
- 4) S. Feng, C. Martinez, G. Gusmaroli, Y. Wang, J. Zhou, F. Wang, L. Chen, L. Yu, J. M. Iglesias-Pedraz, S. Kircher *et al.*: *Nature*, **451**, 475 (2008).
- 5) X. Hou, L. Ding & H. Yu: *Plant Cell Rep.*, **32**, 1067 (2013).
- 6) G. J. Hong, X. Y. Xue, Y. B. Mao, L. J. Wang & X. Y. Chen: *Plant Cell*, **24**, 2635 (2012).
- 7) A. Locascio, M. A. Blázquez & D. Alabadi: *Plant Cell Physiol.*, **54**, 1229 (2013).
- 8) R. Zentella, Z. L. Zhang, M. Park, S. G. Thomas, A. Endo, K. Murase, C. M. Fleet, Y. Jikumaru, E. Nambara, Y. Kamiya *et al.*: *Plant Cell*, **19**, 3037 (2007).
- 9) H. Yoshida, K. Hirano, T. Sato, N. Mitsuda, N. Nomoto, K. Maeo, E. Kohketsu, R. Mitani, M. Kawamura, S. Ishiguro *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 7861 (2014).
- 10) J. Colasanti, Z. Yuan & V. Sundaresan: *Cell*, **93**, 593 (1998).
- 11) M. T. Morita, K. Sakaguchi, S. Kiyose, K. Taira, T. Kato, M. Nakamura & M. Tasaka: *Plant J.*, **47**, 619 (2006).
- 12) D. Cui, J. Zhao, Y. Jing, M. Fan, J. Liu, Z. Wang, W. Xin & Y. Hu: *PLoS Genet.*, **9**, e1003759 (2013).
- 13) Z. L. Zhang, M. Ogawa, C. M. Fleet, R. Zentella, J. Hu, J. O. Heo, J. Lim, Y. Kamiya, S. Yamaguchi & T. P. Sun: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 2160 (2011).
- 14) J. Fukazawa, H. Teramura, S. Murakoshi, K. Nasuno, N. Nishida, T. Ito, M. Yoshida, Y. Kamiya, S. Yamaguchi & Y. Takahashi: *Plant Cell*, **26**, 2920 (2014).
- 15) C. K. Glass & M. G. Rosenfeld: *Genes Dev.*, **14**, 121 (2000).
- 16) M. G. Rosenfeld, V. V. Lunyak & C. K. Glass: *Genes Dev.*, **20**, 1405 (2006).
- 17) J. Luo, N. Ma, H. Pei, J. Chen, J. Li & J. Gao: *J. Exp. Bot.*, **64**, 5075 (2013).
- 18) A. Locascio, M. A. Blázquez & D. Alabadi: *Curr. Biol.*, **23**, 804 (2013).
- 19) J. Park, K. T. Nguyen, E. Park, J. S. Jeon & G. Choi: *Plant Cell*, **25**, 927 (2013).
- 20) E. A. Sarnowska, A. T. Rolicka, E. Bucior, P. Cwiek, T. Tohge, A. R. Fernie, Y. Jikumaru, Y. Kamiya, R. Franzen, E. Schmelzer *et al.*: *Plant Physiol.*, **163**, 305 (2013).
- 21) A. M. Middleton, S. Úbeda-Tomás, J. Griffiths, T. Holman, P. Hedden, S. G. Thomas, A. L. Phillips, M. J. Holdsworth, M. J. Bennett, J. R. King *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 7571 (2012).
- 22) L. R. Band, S. Úbeda-Tomás, R. J. Dyson, A. M. Middleton, T. C. Hodgman, M. R. Owen, O. E. Jensen, M. J. Bennett & J. R. King: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 7577 (2012).
- 23) S. Cheminant, M. Wild, F. Bouvier, S. Pelletier, J. P. Renou, M. Erhardt, S. Hayes, M. J. Terry, P. Genschik & P. Achard: *Plant Cell*, **23**, 1849 (2011).
- 24) N. Arnaud, T. Girin, K. Sorefan, S. Fuentes, T. A. Wood, T. Lawrenson, R. Sablowski & L. Østergaard: *Genes Dev.*, **24**, 2127 (2010).
- 25) S. Yu, V. C. Galvão, Y. C. Zhang, D. Horrer, T. Q. Zhang, Y. H. Hao, Y. Q. Feng, S. Wang, M. Schmid & J. W. Wang: *Plant Cell*, **24**, 3320 (2012).
- 26) F. An, X. Zhang, Z. Zhu, Y. Ji, W. He, Z. Jiang, M. Li & H. Guo: *Cell Res.*, **22**, 915 (2012).
- 27) M. Y. Bai, J. X. Shang, E. Oh, M. Fan, Y. Bai, R. Zentella, T. P. Sun & Z. Y. Wang: *Nat. Cell Biol.*, **14**, 810 (2012).
- 28) T. Qi, H. Huang, D. Wu, J. Yan, Y. Qi, S. Song & D. Xie: *Plant Cell*, **26**, 1118 (2014).
- 29) E. Oh, J. Y. Zhu, M. Y. Bai, R. A. Arenhart, Y. Sun & Z. Y. Wang: *eLife*, **3**, e03031 (2014).
- 30) J. M. Davière, M. Wild, T. Regnault, N. Baumberger, H. Eisler, P. Genschik & P. Achard: *Curr. Biol.*, **24**, 1923 (2014).
- 31) Z. Ma, X. Hu, W. Cai, W. Huang, X. Zhou, Q. Luo, H. Yang, J. Wang & J. Huang: *PLoS Genet.*, **10**, e1004519 (2014).
- 32) B. Rombolá-Caldentey, P. Rueda-Romero, R. Iglesias-Fernández, P. Carbonero & L. Oñate-Sánchez: *Plant Cell*, **26**, 2905 (2014).
- 33) S. Lim, J. Park, N. Lee, J. Jeong, S. Toh, A. Watanabe, J. Kim, H. Kang, D. H. Kim, N. Kawakami *et al.*: *Plant Cell*, **25**, 4863 (2013).
- 34) N. Yamaguchi, C. M. Winter, M. F. Wu, Y. Kanno, A. Yamaguchi, M. Seo & D. Wagner: *Science*, **344**, 638 (2014).

プロフィール

吉田 英樹 (Hideki YOSHIDA)

<略歴>2012年名古屋大学農学部資源生物科学科卒業/2015年日本学術振興会特別研究員 (DC)/名古屋大学生命農学研究科博士課程在学中<研究テーマと抱負>高等植物におけるジベレリンシグナル伝達を中心とするシグナルネットワークの解析を通じて、植物を形作っている分子メカニズムを明らかにしたい<趣味>ゲーム

上口(田中)美弥子 (Miyako UEGUCHI-TANAKA)

<略歴>1980年京都大学農学部農芸化学科卒業/1986年同大学大学院農学研究科博士後期課程満期退学/1986年大阪府立公衆衛生研究所研究員/1996年名古屋大学研究員/2008年同准教授、現在に至る<研究テーマと抱負>植物においてジベレリンの合成やシグナル伝達がどのように進化していったかを明らかにすることにより、植物の伸長や生殖といった植物の基本的なあり様を理解する<所属研究室ホームページ><http://bbc.agr.nagoya-u.ac.jp/~yuuyo/><趣味>読書・音楽鑑賞・ボランティア活動

Copyright © 2016 公益社団法人日本農芸化学会
DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.54.176