

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	植物の概日時計因子による低温ストレス耐性獲得の分子機構の解明		
研究テーマ (英文)	Cold-inducible gene expression regulated by circadian clock components in plants		
研究期間	2019年～2020年		研究機関名 東京大学
研究代表者	氏名	(漢字)	城所 聡
		(カタカナ)	キドコロ サトシ
		(英文)	Satoshi Kidokoro
	所属機関・職名	東京大学大学院農学生命科学研究科・助教	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字～800字程度にまとめてください。)

植物において低温ストレス耐性獲得のマスターレギュレーターとして機能する DREB1 転写因子は、その遺伝子発現が低温ストレスにより急速に誘導される。本研究では、シロイヌナズナの3つの DREB1 相同遺伝子のうち、DREB1Aに着目した。その結果、DREB1Aの低温誘導性発現が、そのプロモーター上のシス配列 Evening Element(EE)によって制御されること、概日時計関連転写因子である RVE4 と RVE8 が EE に結合し DREB1A の発現を誘導することを明らかにした。また、RVE4/RVE8 は通常生育時には主に細胞質に局在するが、低温ストレス時には核へ集積した。

また、部分欠損 RVE8 を用いた相補性試験を行なった結果、RVE8 の C 末端領域が DREB1A の低温誘導において重要な機能を持つことが示唆された。RVE8 の C 末端領域に相互作用するタンパク質を探索し、RVE-Interacting Protein (RIP)ファミリーを同定した。RIP ファミリーは RIP1 から RIP4 の4つから成り、それらの過剰発現体または機能欠損型変異体を解析した結果、RIP1 および RIP2 過剰発現体では低温ストレス下での DREB1A の発現量が上昇した一方で、変異体では低温ストレス下での DREB1A の発現量がわずかに低下した。

さらに、先行研究および RIP ファミリーの解析から RVE4/RVE8 が RIP 以外の転写関連因子とも協調的に機能する可能性が考えられたことから、DREB1A の低温誘導性発現に機能する新奇コアクチベーターの探索を目指し、RVE8 の新奇相互作用因子の同定を試みた。RVE8-sGFP 過剰発現体を用いた共免疫沈降を行い、LC-MS/MSによって共精製タンパク質を同定した。その中から細胞内局在や機能を基に12種類のタンパク質を RVE8 新奇相互作用候補因子として得た。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Posttranslational regulation of multiple clock-related transcription factors triggers cold-inducible gene expression in Arabidopsis				
	著者名	Kidokoro et al.	雑誌名	PNAS		
	ページ	e2021048118	発行年	2 0 2 1	巻号	118(10)
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

DREB1/CBF transcription factors function as master regulators in the expression of the cold-inducible genes. Arabidopsis genome contains three *DREB1* genes, *DREB1A*, *DREB1B*, *DREB1C* and their expression is rapidly induced by the cold stress. We revealed that a cis-acting element, named as Evening Element (EE), in the *DREB1A* promoter was essential for its cold-inducible expression. In addition, two transcription factors that function in a central oscillator of plant circadian clock, RVE4 and RVE8, recognized the EE and activate a transcription. These proteins were localized mainly in cytosols under normal growth conditions, and accumulated in nuclei in response to the cold stress. A complementation analysis of RVE8, found that its C-terminal region was required for cold-inducible expression of *DREB1A*. We identified a protein family that could interact with the C-terminal region of RVE8, and were named as RVE Interacting Protein (RIP) family. Overexpression of *RIP1* and *RIP2* in transgenic Arabidopsis caused increased expression of *DREB1A* under the cold stress at night. In the mutant plants of the RIP family, the cold-inducible expression of *DREB1A* was decreased. We also attempted to isolate other interacting proteins of RVE8 than RIPs by using a co-immunoprecipitation followed by LC-MS/MS analysis and isolated 12 candidate proteions.