

植物pre-mRNA スプライシングの特徴とその生理的役割

高柳 なつ, 大谷 美沙都

植物は多くの真核生物と異なり、自ら動くことができないため、環境変化に応答して生育を調整するための独自の分子機構を発達させている。近年の研究成果から、そのための仕組みの一つが、pre-mRNA スプライシングであることが示唆されている。本稿では、pre-mRNA スプライシング機構の植物特異的な側面、特に筆者らが解析してきたU small nuclear ribonucleoprotein (U snRNP) 生合成について、シロイヌナズナの分子生物学研究の知見を中心に概説する。さらに、植物環境応答におけるpre-mRNA スプライシングの重要性を示す研究例を紹介し、pre-mRNA スプライシングが担う植物生理的役割について考察したい。

1. 植物のpre-mRNA スプライシング

1) 植物のpre-mRNA スプライシング制御の特徴

pre-mRNA スプライシングは、スプライソソームと呼ばれる分子装置によって触媒される反応である。スプライソソームのコア因子はU small nuclear ribonucleoprotein (U snRNP) であり、U snRNA (Uridine-rich small nuclear RNA) とその特異的相互作用タンパク質群の複合体である^{1,2)}。snRNPによるpre-mRNA スプライシング反応の分子機序は、酵母やヒトのpre-mRNA スプライシング研究から明らかにされており、その詳細は他著^{1,2)}に譲る。U snRNPはじめ、重要なpre-mRNA スプライシング因子は植物でも保存されていることから、基本的なpre-mRNA スプライシング機構は植物を含めて広く真核生物で共通していると考えられている³⁾。

その一方で、植物ではゲノム倍化によって、pre-mRNA スプライシング因子をコードする遺伝子数が、平均的な動物種のケースの2倍程度に増加していることもわかって

いる^{3,4)}。たとえば、serine-arginine (SR) タンパク質ファミリーに関しては、植物特異的なドメイン構造を持つRSサブファミリー、RS2Zサブファミリー、SCLサブファミリー、SR45サブファミリー、の四つのサブファミリーが見つかっている^{3,5)}。シロイヌナズナSR45タンパク質は、環境応答や形態形成に重要な役割を担うことが報告されており^{6,7)}、植物特異的なpre-mRNA スプライシング因子の重要性もわかりつつある。

また近年のゲノムワイド解析によって、植物におけるpre-mRNA スプライシング制御のゲノムワイドな特徴も明らかにされている。たとえば、選択的pre-mRNA スプライシングはエクソンとイントロンの選択形式によって分類されるが、ヒトでは特定のエクソンを飛ばしてpre-mRNA スプライシングを起こす「スキッピングエクソン型」の選択的pre-mRNA スプライシングの頻度が高い一方で、植物では「イントロン保持 (intron retain: IR) 型」の頻度が最も高い⁸⁻¹⁰⁾。IR産物は一般的に新規のストップコドンを生み出す場合が多く、これはRNAの品質管理機構の一つであるナンセンス変異依存的mRNA分解機構 (non-sense mediated mRNA decay: NMD) の標的になるため、その多くはmRNA段階で分解されタンパク質に至らない不良RNAと考えられてきた¹¹⁾。しかしながら植物においては、NMDの標的とはならないIR産物が存在すること¹²⁾、選択的pre-mRNA スプライシングの産物の35%がポリソームに結合しており、翻訳されていると考えられること¹³⁾が報告されている。特に、コドンの読み枠が変わらずGC含有率がエクソン並みに高いイントロンは「Existron」として整理・注目されており、植物では特にその比率が高いことが確認されている^{14,15)}。このように、植物では、動物とは異

東京大学大学院新領域創成科学研究科 (〒277-8562 千葉県柏市柏の葉5-1-5 生命棟601)

Characteristics of plant pre-mRNA splicing and its physiological significance

Natsu Takayanagi and Misato Ohtani (Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Bioscience Building 601, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8562, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940861

© 2022 公益社団法人日本生化学会

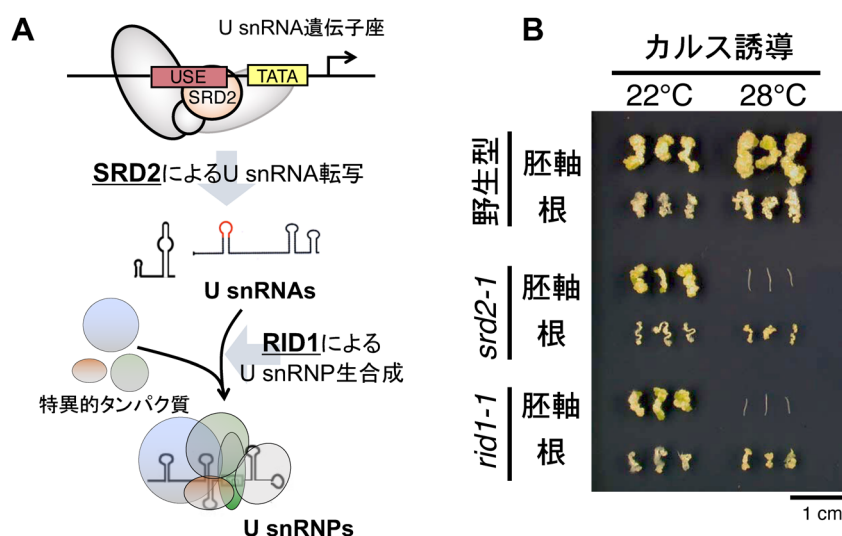


図1 U snRNP生合成のカルス形成における重要性

(A) シロイヌナズナにおいてSRD2はU snRNAの転写に、RID1は核小体におけるU snRNAとタンパク質の結合に、それぞれ機能すると考えられる。(B) *srd2-1* および *rid1-1* 変異体は、胚軸からのカルス形成に温度感受性を示す一方、根からのカルス形成は温度によらず認められる。

なる選択的pre-mRNAスプライシング制御の特徴を進化させてきたと考えられる。

2) 植物におけるU snRNP生合成経路

先述のとおり、U snRNAは、スプライソソームのコア因子U snRNPを構成する重要な小分子RNAである。ヒトのU snRNA遺伝子は、ゲノム上に5~20のコピー遺伝子がタンデムに反復した状態でコードされており¹⁶⁾、このU snRNA遺伝子座領域のクロマチン構造が緩み、カハール体(Cajal body)と結合することで、活発な転写が行われる¹⁷⁾。これに対して、シロイヌナズナゲノムにはこうしたU snRNA遺伝子の高度なタンデムリピートは見つからず、代わりにクラスターを形成して存在していることが見いだされた⁴⁾。シロイヌナズナゲノムでは、U4 snRNAの180~300nt上流にU1 snRNAが位置するU1 snRNAとU4 snRNAのクラスター(U1-U4 snRNAクラスター)が7個見つかり、その多くは5番染色体に位置している。また、U2-U5 snRNAクラスターや、U2 snRNAとU5 snRNAのタンデム重複も見つかり、U snRNA遺伝子のゲノム配置は、複数箇所に集中しているものの、ヒトとはまったく異なる配置をとることがわかっている⁴⁾。

哺乳類研究からは、スプライソソームを構成するsnRNPの生合成経路は、snRNAのクラスによって異なることも示されている。RNAポリメラーゼIIによって転写されるSmクラスsnRNA(U1, U2, U4, U5, U11, U12 snRNAおよびU4atac snRNA)の場合、snRNAの修飾やプロセッシングは、核内と核外の両方で行われるが、一方で、RNAポリメラーゼIIIによって転写されるSm-likeクラスsnRNA(U6 snRNAおよびU6atac snRNA)は、核内ですべての過程が終結する^{2, 18)}。具体的には、SmクラスsnRNAは、核内でsnRNA特異的転写因子複合体(snRNA activating protein

complex: SNAPc)によって転写され修飾を受けた後、核外へ輸送されキャップ構造のトリメチル化修飾を受ける。さらにトリミングを受け、特異的相互作用タンパク質と結合した後、再び核内に輸送され、カハール体や核小体でsnRNP構成タンパク質と結合し、成熟snRNPとなる^{2, 18, 19)}。興味深いことに、シロイヌナズナゲノムからは、これら哺乳類snRNP生合成因子について、一部しかホモログ因子が見つからない。たとえば、細胞質においてsnRNAとSmタンパク質群との結合制御に関わるsurvival motor neuron(SMN)複合体関連タンパク質のうち、シロイヌナズナではGEMIN2とAtPRMT5のみが保存されている¹⁹⁻²²⁾。このことから、U snRNP生合成経路については、動物と植物では一部異なっている可能性も考えられるが、詳細は不明なままである。今後の解析による実態解明が待たれる。

3) 植物snRNP生合成因子のユニークな役割

筆者らは、シロイヌナズナのU snRNP生合成関連因子の分子遺伝学的解析を進めている(図1)。シロイヌナズナ突然変異体shoot redifferentiation defective 2-1(*srd2-1*)およびroot initiation defective 1-1(*rid1-1*)は、高温条件下で組織培養における器官再生不全を示す点変異型温度感受性変異体である^{23, 24)}。植物は一般的に高い再生能力を持ち、オーキシンやサイトカイニンといった植物ホルモン条件を調整することで、植物組織片から脱分化(カルス形成)および再分化(器官再生)を誘導することができる。*srd2-1*と*rid1-1*の表現型解析から、SRD2とRID1は胚軸脱分化(カルス形成)と、カルスからの新たな分裂組織形成の両方に重要な役割を持つこと、特にカルス形成初期の細胞増殖能獲得に関わることがわかった²⁵⁻²⁹⁾(図1)。解析の結果、SRD2遺伝子はヒトSNAPcのサブユニットSNAP50のホモログをコー

表1 環境ストレス応答に関与するスプライシング関連変異体の例

変異体	原因遺伝子	AGI	高温	低温	塩	参考文献
<i>sr45</i>	<i>SR45</i>	AT1G16610			✓	7)
<i>srd2-1</i>	<i>SRD2</i>	AT1G28560	✓			23, 35)
<i>rid1-1</i>	<i>RID1</i>	AT1G26370	✓			26)
<i>gemin2-1</i>	<i>GEMIN2</i>	AT1G54380		✓		22)
<i>tgs1</i>	<i>TGS1</i>	AT1G45231		✓		38)
<i>cyp18-1</i>	<i>CYP18-1</i>	AT1G01940	✓			46)
<i>sta1-1</i>	<i>STA1</i>	AT4G03430	✓	✓		47, 48, 49, 50)
<i>skip-1</i>	<i>SKIP</i>	AT1G77180			✓	51, 52)
<i>sf1</i>	<i>SF1</i>	AT5G51300	✓	✓		58)

ドしており、植物細胞内でU snRNA転写制御に関与すること²⁵⁾、*RID1*遺伝子は核小体に局在しU snRNP成熟に関わる可能性があるDEAH-box型RNAヘリカーゼをコードすること²⁶⁾、が示された。さらには、U snRNAレベルが胚軸細胞の細胞増殖能を規定すること、細胞脱分化には分裂組織の活性維持よりもより高いレベルのU snRNAレベルが必要とされることもわかった²⁷⁾。以上は、U snRNP生合成制御が植物細胞の特徴的性質である細胞増殖・分化能の可塑的制御に本質的な役割を示していることを世界に先駆けて示す、重要な成果であった^{19, 27, 28)}。

*srd2-1*や*rid1-1*の芽生えでは、高温条件下で側根形成、分裂組織の確立、葉の形態形成、花器官形成に異常がみられることから、U snRNP生合成は器官再生の場面だけでなく、高温ストレス下での植物発生制御にもまた重要であると考えられる^{19, 26, 28, 30, 31)}。興味深いことに、前述のU snRNP生合成に関わるSMN複合体サブユニットGEMIN2のシロイヌナズナ変異体*gemin2-1*は、概日時計の攪乱や低温ストレス高感受性の表現型を示す²²⁾。また*GEMIN2* mRNA自身、温度依存的な選択的pre-mRNAスプライシング制御を受け、低温条件下では機能的なアイソフォームの割合が増加する³²⁾。AtPRMT5も概日時計制御に関わり^{33, 34)}、加えて塩や乾燥といった環境ストレス応答にも重要であることが報告されている³⁵⁻³⁷⁾。さらにU snRNAのキャップ構造をトリメチル化する酵素trimethylguanosine synthase (TGS)の機能不全は、シロイヌナズナにおいて低温耐性を低下させることもわかっている³⁸⁾。以上の知見(表1)は、U snRNP生合成制御は植物の環境ストレス応答においても重要であることを示している。さらに筆者たちの観察では、U snRNP生合成関連変異体それぞれが異なる環境ストレスへの耐性異常を示すこともわかりつつあり、U snRNP生合成のステップが各々異なる役割を果たしていることも推測される。

2. 植物環境応答におけるpre-mRNAスプライシングダイナミクス制御

前節で述べたとおり、U snRNP生合成因子を含むpre-

mRNAスプライシング制御因子の変異体がストレス応答異常を示す事例は多く蓄積しており、pre-mRNAスプライシングの環境応答における重要性を端的に示す成果となっている。また、ゲノムワイドトランスクリプトーム解析によって、環境ストレス応答時にpre-mRNAスプライシングパターンが大きく変化することや、選択的スプライシングが生じる部位はストレス種間で異なることがわかりつつある^{39, 40)}。このとき、RNAプロセッシングに関連する遺伝子の発現も変化する^{41, 42)}。また、興味深いことに、pre-mRNAスプライシング阻害剤処理と環境ストレス処理時のトランスクリプトームがよく似ていることも報告されている^{43, 44)}。このように、植物環境応答とpre-mRNAスプライシング制御の間には強いつながりがあることが多角的に明らかとなってきた。

ここで、pre-mRNAスプライシングダイナミクスがどのように環境応答に貢献するのか、その分子作用機序を整理してみよう。論理的には、図2で示したような二つの道筋が想定される。すなわち、第一には、pre-mRNAスプライシング制御因子自体の発現やpre-mRNAスプライシングパターンがストレスに応答して変動し、結果としてpre-mRNAスプライシングパターンの変動をもたらし、というケース(図2の左側)である。さらには、こうしたpre-mRNAスプライシング制御因子の機能性変化によって、ストレス応答の鍵遺伝子mRNAのスプライシングパターンが大きく変動するケースである。この場合、pre-mRNAスプライシングパターン変化の結果としてストレス応答鍵因子の機能性が変化し、適切なストレス応答を誘導すると考えられる(図2の右側)。以下、この二つのケースについて、実例をいくつか紹介する。

1) pre-mRNAスプライシング制御因子mRNAのストレス応答性

先述の*SR*遺伝子のmRNAは、その多くが、高温、低温、光の条件に応答して自身のpre-mRNAスプライシングパターンを変化させることが示されている⁴⁵⁾。また、pre-mRNAスプライシング因子をコードする*CYCLOPHILIN18-1* (*CYP18-1*) 遺伝子は高温応答的にその発

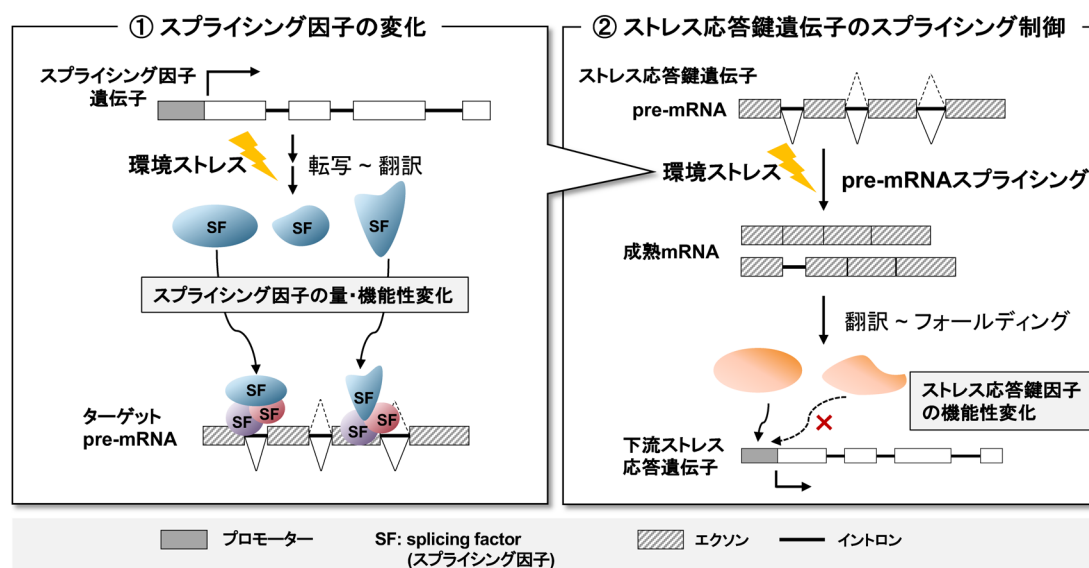


図2 植物環境応答における pre-mRNA スプライシングの役割
pre-mRNA スプライシングの環境応答への貢献は、①②のように整理できる。①（左側）は、pre-mRNA スプライシング制御因子自体の発現や pre-mRNA スプライシング制御がストレス応答性を示すケースを示す。②（右側）は、ストレス応答の鍵遺伝子の pre-mRNA スプライシング制御がストレス応答性を示すケースを示す。

現が変動し、スプライソソーム構成タンパク質の脱リン酸化を制御することで、pre-mRNA スプライシング調節に関与することが示されている⁴⁶⁾。その他にも、酵母PRP6のホモログでU4/U6-U5 snRNPのアッセムブリーに参与するSTABILIZED 1 (STA1)は、低温、塩ストレスでその発現が上昇する⁴⁷⁻⁵⁰⁾。上述したSR45と相互作用するSki-interacting protein (SKIP)の発現も、塩や乾燥ストレスの影響を受ける^{51, 52)}。こうしたpre-mRNA スプライシング因子機能不全変異体は、先の*srd2-1*や*rid1-1*の高温感受性のように、ストレスに弱くなる表現型を示すことが多い^{19, 26, 28, 30, 31)}（表1）。さらにSKIPの例では、塩ストレスによって引き起こされるpre-mRNA スプライシングパターン変化の大半がSKIPによって制御されることが示唆されており⁵¹⁾、植物は環境ストレスに応答して積極的にpre-mRNA スプライシング制御因子のバリエーションや機能性を変化させ、スプライシングバリエーションの作り替えをしていると考えられる。

2) ストレス応答鍵遺伝子mRNAのpre-mRNA スプライシングダイナミクス

ストレス応答鍵遺伝子mRNAのスプライシングダイナミクスが環境ストレス応答に大きな影響をもたらす好例として、たとえば、熱応答遺伝子*Heat shock transcription factor A2* (*HsfA2*)があげられる。*HsfA2*は熱応答に重要な因子であり、*hsfa2*変異体では熱ストレス高感受性を示す⁵³⁾。*HsfA2* mRNAは、熱ストレス依存的なスプライシングダイナミクスを示し^{54, 55)}、興味深いことに、熱ストレスによって出現するスプライシングバリエーションから作られる*HsfA2* タンパク質バリエーションが、*HsfA2* 遺伝子のプロモーターに結合して自身の転写を活性化するという、正のフィード

バックループ転写制御が存在することが示された⁵⁵⁾。また、花成制御の重要因子である低温応答性遺伝子*FLOWERING LOCUS M* (*FLM*)も、温度条件依存的に二つのpre-mRNA スプライシングバリエーション*FLM-β*および*FLM-δ*の比が変化する。このうち、*FLM-β*が機能的なタンパク質をコードするスプライシングバリエーションであり、ターゲット遺伝子のプロモーターに結合して花成に抑制的に働く⁵⁶⁾。それに対し、*FLM-δ*は花成に促進的に働くことから、*FLM-β*と*FLM-δ*の比が花成制御にとって重要であることが示されている⁵⁷⁾。さらに、この*FLM* mRNAの温度依存的なpre-mRNA スプライシング制御には、pre-mRNA スプライシング因子AtSF1が関与することも報告された⁵⁸⁾。このように、植物の環境応答戦略の一つとして、鍵遺伝子のpre-mRNA スプライシングダイナミクスが積極的に変化し、その結果、植物の環境応答・発生の方向性が決定されるという仕組みが想像される。pre-mRNA スプライシング因子自身の発現やpre-mRNA スプライシングダイナミクスを介して、どのように鍵遺伝子のpre-mRNA スプライシングが変化し、植物の環境応答や発生制御が行われるのか、今後のさらなる解析による包括的理解が期待される。

3. pre-mRNA スプライシングと光合成活性の関わり

葉緑体は植物や藻類などに特有のオルガネラであり、光合成をはじめとするさまざまな代謝反応の場である。また、葉緑体は環境を感知してその情報を核に伝える重要なオルガネラでもある⁵⁹⁻⁶¹⁾。この葉緑体から核へと発せられるレトログレードシグナルは、核の遺伝子発現制御を介して、光合成活性や形態形成、植物ホルモン応答などを制御することが知られている⁵⁹⁻⁶¹⁾。長らく葉緑体レトログレー

ドシグナルは、転写因子やmicroRNAを介して核の転写制御に影響されると理解されてきたが、近年、pre-mRNA スプライシングもターゲットにしていることが明らかになりつつある^{62, 63)}。

Petrilloら(2014)は、地上部で生成される光条件依存的な葉緑体レトログレードシグナルが、地下部組織におけるpre-mRNA スプライシングパターン (*RS31* 遺伝子mRNAなど)を変化させることを明らかにした⁶²⁾。同グループはさらに研究を進め、葉緑体レトログレードシグナルの少なくとも一部は、地下部のミトコンドリアとtarget of rapamycin (TOR) キナーゼによって、pre-mRNA スプライシング制御に影響すること、また、シグナルの分子実体の少なくとも一部は、地上部から地下部へ輸送される光合成産物である糖が担っていることを報告している⁶³⁾。こうした結果は、pre-mRNA スプライシングは、葉緑体が感知した地上部情報を地下部に伝える際の重要な受け口になっていることを示唆しており、非常に興味深い。筆者らも、現在、こうしたpre-mRNA スプライシング制御を介した環境ストレス応答に注目し、光合成活性依存的な側根形態制御について解析を進めている。これによって想定されてこなかった新たなpre-mRNA スプライシングの植物生理的役割がみえつつあり、稿を変えて紹介する機会を待ちたい。

4. おわりに

以上、本稿では、植物のpre-mRNA スプライシングの特徴および生理的役割に関する現在の知見を紹介してきた。大きくまとめると、植物は真核生物に広く共通したpre-mRNA スプライシング制御の大枠を保持しながら、植物特異的な側面を進化させており、こうした特徴が、植物ならではの生理現象の制御に貢献していると考えられる。植物を材料としたゲノムワイドなトランスクリプトームデータが蓄積する中で、環境応答や発生進行と連動したpre-mRNA スプライシングダイナミクスの記述は爆発的に増加し、植物におけるpre-mRNA スプライシングの重要性は多角的に証明されてきた。その一方で、pre-mRNA スプライシングを介した植物生理現象制御の分子メカニズムや意義については、いまだ理解の途上にある。今後は、植物種間におけるスプライシングダイナミクスの比較解析や、mRNA 構造ダイナミクスの解明、またmRNA代謝の時空間的な高解像度解析などを通じて、植物pre-mRNA スプライシング研究がさらなる深化を遂げ、植物におけるpre-mRNA スプライシングの役割の理解がいっそう深まることを期待したい。

謝辞

本稿を執筆するにあたっては、公益財団法人住友財団、公益社団法人東レ科学振興会(19-6002)、科研費(Grant No. 18H05489, 20K21415, 21H05652)、また東京大学卓越大学院プログラム「環境調和農学」の多大なる援助をいただ

きました。ここに心よりお礼申し上げます。

文 献

- 1) Jurica, M.S. & Moore, M.J. (2003) Pre-mRNA splicing: Awash in a sea of proteins. *Mol. Cell*, **12**, 5–14.
- 2) Will, C.L. & Lührmann, R. (2011) Spliceosome structure and function. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **3**, a003707.
- 3) Reddy, A.S., Marquez, Y., Kalyna, M., & Barta, A. (2013) Complexity of the alternative splicing landscape in plants. *Plant Cell*, **25**, 3657–3683.
- 4) Wang, B.B. & Brendel, V. (2004) The ASRG database: Identification and survey of *Arabidopsis thaliana* genes involved in pre-mRNA splicing. *Genome Biol.*, **5**, R102.
- 5) Barta, A., Kalyna, M., & Lorković, Z.J. (2008) Plant SR proteins and their functions. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **326**, 83–102.
- 6) Zhang, X.N. & Mount, S.M. (2009) Two alternatively spliced isoforms of the Arabidopsis SR45 protein have distinct roles during normal plant development. *Plant Physiol.*, **150**, 1450–1458.
- 7) Albaqami, M., Laluk, K., & Reddy, A. (2019) The Arabidopsis splicing regulator SR45 confers salt tolerance in a splice isoform-dependent manner. *Plant Mol. Biol.*, **100**, 379–390.
- 8) Wang, E.T., Sandberg, R., Luo, S., Khrebukova, I., Zhang, L., Mayr, C., Kingsmore, S.F., Schroth, G.P., & Burge, C.B. (2008) Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. *Nature*, **456**, 470–476.
- 9) Filichkin, S.A., Priest, H.D., Givan, S.A., Shen, R., Bryant, D.W., Fox, S.E., Wong, W.K., & Mockler, T.C. (2010) Genome-wide mapping of alternative splicing in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res.*, **20**, 45–58.
- 10) Marquez, Y., Brown, J.W., Simpson, C., Barta, A., & Kalyna, M. (2012) Transcriptome survey reveals increased complexity of the alternative splicing landscape in Arabidopsis. *Genome Res.*, **22**, 1184–1195.
- 11) de Lima Morais, D.A. & Harrison, P.M. (2010) Large-scale evidence for conservation of NMD candidature across mammals. *PLoS One*, **5**, e11695.
- 12) Kalyna, M., Simpson, C.G., Syed, N.H., Lewandowska, D., Marquez, Y., Kusenda, B., Marshall, J., Fuller, J., Cardle, L., McNicol, J., et al. (2012) Alternative splicing and nonsense-mediated decay modulate expression of important regulatory genes in Arabidopsis. *Nucleic Acids Res.*, **40**, 2454–2469.
- 13) Yu, H., Tian, C., Yu, Y., & Jiao, Y. (2016) Transcriptome survey of the contribution of alternative splicing to proteome diversity in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant*, **9**, 749–752.
- 14) Marquez, Y., Höpfner, M., Ayatollahi, Z., Barta, A., & Kalyna, M. (2015) Unmasking alternative splicing inside protein-coding exons defines exitrons and their role in proteome plasticity. *Genome Res.*, **25**, 995–1007.
- 15) Staiger, D. & Simpson, G.G. (2015) Enter exitrons. *Genome Biol.*, **16**, 136.
- 16) Doucet, A.J., Droc, G., Siol, O., Audoux, J., & Gilbert, N. (2015) U6 snRNA pseudogenes: Markers of retrotransposition dynamics in mammals. *Mol. Biol. Evol.*, **32**, 1815–1832.
- 17) Staněk, D. (2017) Cajal bodies and snRNPs—Friends with benefits. *RNA Biol.*, **14**, 671–679.
- 18) Patel, S.B. & Bellini, M. (2008) The assembly of a spliceosomal small nuclear ribonucleoprotein particle. *Nucleic Acids Res.*, **36**, 6482–6493.
- 19) Ohtani, M. (2018) Plant snRNP biogenesis: A perspective from the nucleolus and cajal bodies. *Front. Plant Sci.*, **8**, 2184.

- 20) Pei, Y., Niu, L., Lu, F., Liu, C., Zhai, J., Kong, X., & Cao, X. (2007) Mutations in the Type II protein arginine methyltransferase AtPRMT5 result in pleiotropic developmental defects in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **144**, 1913–1923.
- 21) Deng, X., Gu, L., Liu, C., Lu, T., Lu, F., Lu, Z., Cui, P., Pei, Y., Wang, B., Hu, S., et al. (2010) Arginine methylation mediated by the *Arabidopsis* homolog of PRMT5 is essential for proper pre-mRNA splicing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 19114–19119.
- 22) Schlaen, R.G., Mancini, E., Sanchez, S.E., Perez-Santángelo, S., Rugnone, M.L., Simpson, C.G., Brown, J.W., Zhang, X., Chernomoretz, A., & Yanovsky, M.J. (2015) The spliceosome assembly factor GEMIN2 attenuates the effects of temperature on alternative splicing and circadian rhythms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 9382–9387.
- 23) Yasutani, I., Ozawa, S., Nishida, T., Sugiyama, M., & Komamine, A. (1994) Isolation of temperature-sensitive mutants of *Arabidopsis thaliana* that are defective in the redifferentiation of shoots. *Plant Physiol.*, **105**, 815–822.
- 24) Konishi, M. & Sugiyama, M. (2003) Genetic analysis of adventitious root formation with a novel series of temperature-sensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, **130**, 5637–5647.
- 25) Ohtani, M. & Sugiyama, M. (2005) Involvement of SRD2-mediated activation of snRNA transcription in the control of cell proliferation competence in *Arabidopsis*. *Plant J.*, **43**, 479–490.
- 26) Ohtani, M., Demura, T., & Sugiyama, M. (2013) *Arabidopsis* root initiation defective1, a DEAH-box RNA helicase involved in pre-mRNA splicing, is essential for plant development. *Plant Cell*, **25**, 2056–2069.
- 27) Ohtani, M. (2015) Regulation of RNA metabolism is important for in vitro dedifferentiation of plant cells. *J. Plant Res.*, **128**, 361–369.
- 28) Ohtani, M. (2017) Transcriptional regulation of snRNAs and its significance for plant development. *J. Plant Res.*, **130**, 57–66.
- 29) Takayanagi, N., Mukai, M., Sugiyama, M., & Ohtani, M. (2022) Transcriptional regulation of cell proliferation competence-associated *Arabidopsis* genes, *CDKA;1*, *RID1*, and *SRD2* by phytohormones in tissue culture. *Plant Biotechnol.*, **39**, 329–333.
- 30) Ohtani, M., Demura, T., & Sugiyama, M. (2008) Differential requirement for the function of SRD2, an snRNA transcription activator, in various stages of plant development. *Plant Mol. Biol.*, **66**, 303–314.
- 31) Ohtani, M., Demura, T., & Sugiyama, M. (2010) Particular significance of SRD2-dependent snRNA accumulation in polarized pattern generation during lateral root development of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.*, **51**, 2002–2012.
- 32) Neumann, A., Meinke, S., Goldammer, G., Strauch, M., Schubert, D., Timmermann, B., Heyd, F., & Preußner, M. (2020) Alternative splicing coupled mRNA decay shapes the temperature-dependent transcriptome. *EMBO Rep.*, **21**, e51369.
- 33) Hong, S., Song, H.R., Lutz, K., Kerstetter, R.A., Michael, T.P., & McClung, C.R. (2010) Type II protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) is required for circadian period determination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 21211–21216.
- 34) Sanchez, S.E., Petrillo, E., Beckwith, E.J., Zhang, X., Rugnone, M.L., Hernando, C.E., Cuevas, J.C., Godoy Herz, M.A., Depetris-Chauvin, A., Simpson, C.G., et al. (2010) A methyl transferase links the circadian clock to the regulation of alternative splicing. *Nature*, **468**, 112–116.
- 35) Zhang, Z., Zhang, S., Zhang, Y., Wang, X., Li, D., Li, Q., Yue, M., Li, Q., Zhang, Y.E., Xu, Y., et al. (2011) *Arabidopsis* floral initiator SKB1 confers high salt tolerance by regulating transcription and pre-mRNA splicing through altering histone H4R3 and small nuclear ribonucleoprotein LSM4 methylation. *Plant Cell*, **23**, 396–411.
- 36) Fu, Y.L., Zhang, G.B., Lv, X.F., Guan, Y., Yi, H.Y., & Gong, J.M. (2013) *Arabidopsis* histone methylase CAU1/PRMT5/SKB1 acts as an epigenetic suppressor of the calcium signaling gene CAS to mediate stomatal closure in response to extracellular calcium. *Plant Cell*, **25**, 2878–2891.
- 37) Fu, Y., Ma, H., Chen, S., Gu, T., & Gong, J. (2018) Control of proline accumulation under drought via a novel pathway comprising the histone methylase CAU1 and the transcription factor ANAC055. *J. Exp. Bot.*, **69**, 579–588.
- 38) Gao, J., Wallis, J.G., Jewell, J.B., & Browse, J. (2017) Trimethylguanosine synthase1 (TGS1) is essential for chilling tolerance. *Plant Physiol.*, **174**, 1713–1727.
- 39) Laloum, T., Martín, G., & Duque, P. (2018) Alternative splicing control of abiotic stress responses. *Trends Plant Sci.*, **23**, 140–150.
- 40) Punzo, P., Grillo, S., & Batelli, G. (2020) Alternative splicing in plant abiotic stress responses. *Biochem. Soc. Trans.*, **48**, 2117–2126.
- 41) Calixto, C., Guo, W., James, A.B., Tzioutziou, N.A., Entizne, J.C., Panter, P.E., Knight, H., Nimmo, H.G., Zhang, R., & Brown, J. (2018) Rapid and dynamic alternative splicing impacts the *Arabidopsis* cold response transcriptome. *Plant Cell*, **30**, 1424–1444.
- 42) Kannan, S., Halter, G., Renner, T., & Waters, E.R. (2018) Patterns of alternative splicing vary between species during heat stress. *AoB Plants*, **10**, ply013.
- 43) AlShareef, S., Ling, Y., Butt, H., Mariappan, K.G., Benhamed, M., & Mahfouz, M.M. (2017) Herboxidiene triggers splicing repression and abiotic stress responses in plants. *BMC Genomics*, **18**, 260.
- 44) Ling, Y., Alshareef, S., Butt, H., Lozano-Juste, J., Li, L., Galal, A.A., Moustafa, A., Momin, A.A., Tashkandi, M., Richardson, D.N., et al. (2017) Pre-mRNA splicing repression triggers abiotic stress signaling in plants. *Plant J.*, **89**, 291–309.
- 45) Palusa, S.G., Ali, G.S., & Reddy, A.S. (2007) Alternative splicing of pre-mRNAs of *Arabidopsis* serine/arginine-rich proteins: Regulation by hormones and stresses. *Plant J.*, **49**, 1091–1107.
- 46) Jo, S.H., Park, H.J., Lee, A., Jung, H., Park, J.M., Kwon, S.Y., Kim, H.S., Lee, H.J., Kim, Y.S., Jung, C., et al. (2022) The *Arabidopsis* cyclophilin CYP18-1 facilitates PRP18 dephosphorylation and the splicing of introns retained under heat stress. *Plant Cell*, **34**, 2383–2403.
- 47) Lee, B.H., Kapoor, A., Zhu, J., & Zhu, J.K. (2006) STABILIZED1, a stress-upregulated nuclear protein, is required for pre-mRNA splicing, mRNA turnover, and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **18**, 1736–1749.
- 48) Ben Chaabane, S., Liu, R., Chinnusamy, V., Kwon, Y., Park, J.H., Kim, S.Y., Zhu, J.K., Yang, S.W., & Lee, B.H. (2013) STA1, an *Arabidopsis* pre-mRNA processing factor 6 homolog, is a new player involved in miRNA biogenesis. *Nucleic Acids Res.*, **41**, 1984–1997.
- 49) Kim, G.D., Cho, Y.H., Lee, B.H., & Yoo, S.D. (2017) STABILIZED1 modulates pre-mRNA splicing for thermotolerance. *Plant Physiol.*, **173**, 2370–2382.
- 50) Kim, G.D., Yoo, S.D., & Cho, Y.H. (2018) STABILIZED1 as a heat stress-specific splicing factor in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal. Behav.*, **13**, e1432955.
- 51) Wang, X., Wu, F., Xie, Q., Wang, H., Wang, Y., Yue, Y., Gahura, O., Ma, S., Liu, L., Cao, Y., et al. (2012) SKIP is a com-

- ponent of the spliceosome linking alternative splicing and the circadian clock in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **24**, 3278–3295.
- 52) Feng, J., Li, J., Gao, Z., Lu, Y., Yu, J., Zheng, Q., Yan, S., Zhang, W., He, H., Ma, L., et al. (2015) SKIP confers osmotic tolerance during salt stress by controlling alternative gene splicing in *Arabidopsis*. *Mol. Plant*, **8**, 1038–1052.
 - 53) Charng, Y.Y., Liu, H.C., Liu, N.Y., Chi, W.T., Wang, C.N., Chang, S.H., & Wang, T.T. (2007) A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **143**, 251–262.
 - 54) Sugio, A., Dreos, R., Aparicio, F., & Maule, A.J. (2009) The cytosolic protein response as a subcomponent of the wider heat shock response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **21**, 642–654.
 - 55) Liu, J., Sun, N., Liu, M., Liu, J., Du, B., Wang, X., & Qi, X. (2013) An autoregulatory loop controlling *Arabidopsis* *HsfA2* expression: Role of heat shock-induced alternative splicing. *Plant Physiol.*, **162**, 512–521.
 - 56) Posé, D., Verhage, L., Ott, F., Yant, L., Mathieu, J., Angehen, G.C., Immink, R.G., & Schmid, M. (2013) Temperature-dependent regulation of flowering by antagonistic FLM variants. *Nature*, **503**, 414–417.
 - 57) Capovilla, G., Symeonidi, E., Wu, R., & Schmid, M. (2017) Contribution of major FLM isoforms to temperature-dependent flowering in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.*, **68**, 5117–5127.
 - 58) Lee, K.C., Chung, K.S., Lee, H.T., Park, J.H., Lee, J.H., & Kim, J.K. (2020) Role of *Arabidopsis* splicing factor SF1 in temperature-responsive alternative splicing of FLM pre-mRNA. *Front. Plant Sci.*, **11**, 596354.
 - 59) Nott, A., Jung, H.S., Koussevitzky, S., & Chory, J. (2006) Plastid-to-nucleus retrograde signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 739–759.
 - 60) Inaba, T., Yazu, F., Ito-Inaba, Y., Kakizaki, T., & Nakayama, K. (2011) Retrograde signaling pathway from plastid to nucleus. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, **290**, 167–204.
 - 61) Chan, K.X., Phua, S.Y., Crisp, P., McQuinn, R., & Pogson, B.J. (2016) Learning the languages of the chloroplast: Retrograde signaling and beyond. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **67**, 25–53.
 - 62) Pettillo, E., Godoy Herz, M.A., Fuchs, A., Reifer, D., Fuller, J., Yanovsky, M.J., Simpson, C., Brown, J.W., Barta, A., Kalyna, M., et al. (2014) A chloroplast retrograde signal regulates nuclear alternative splicing. *Science*, **344**, 427–430.
 - 63) Riegler, S., Servi, L., Scarpin, M.R., Godoy Herz, M.A., Kubacka, M.G., Venhuizen, P., Meyer, C., Brunkard, J.O., Kalyna, M., Barta, A., et al. (2021) Light regulates alternative splicing outcomes via the TOR kinase pathway. *Cell Rep.*, **36**, 109676.

著者寸描

●高柳 なつ (たかやなぎ なつ)

東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻博士後期課程1年。修士。

■略歴 2020年東京理科大学理工学部卒業。22年東京大学大学院新領域創成科学研究科修士課程修了。22年より現所属。

■研究テーマと抱負 研究テーマは「プラスチドシグナル依存的な側根形態制御におけるpre-mRNAスプライシングの役割の解明」。植物の環境応答システムの理解を目指して、研究に邁進したいと思います。

■趣味 読書。

●大谷 美沙都 (おおたに みさと)

東京大学大学院新領域創成科学研究科准教授。博士(理学)。

■略歴 2000年東京大学理学部卒業。02年同大学院理学系研究科修士課程修了。05年同博士(理学)取得。06年理研基礎科学特別研究員。10年理研研究員。14年奈良先端科学技術大学院大学助教。19年より現職。

■研究テーマと抱負 「植物細胞の増殖・分化能制御の分子機構の解明」。植物の生き様をシステムとして理解するため、さまざまな角度で研究を進めています。

■ウェブサイト <https://plantfunkashiwa.jimdofree.com/>

■趣味 読書、美術・音楽鑑賞。