

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 尹 赫 晟

風雨や虫・動物による食害は植物に機械的なストレスを与える。このような機械的なストレスは、その程度が大きいと植物の成育を抑制するが、適度であれば、「麦踏み」に見られるように植物の成育を助長しうる。植物の機械的ストレスへの応答の分子機構を理解することは、作物の成育や収量を向上させることにも役立ちうる。

シロイヌナズナの機械的ストレス応答に関わるタンパク質として VIP1 という転写因子が同定されている。VIP1 はシロイヌナズナの多くの組織において発現しており、細胞が機械的ストレスに晒された際に細胞質から核に移行する。VIP1 の機能を攪乱しうるキメラタンパク質である VIP1-SRDX を用いた解析から、VIP1 は根の接触屈性（根端が物体に触れた際に屈曲する性質）を制御することが示唆されている。細胞質に存在する VIP1 はリン酸化されており、VIP1 は核に局在する際にはプロテインホスファターゼ 2A (PP2A) により脱リン酸化される。シロイヌナズナには VIP1 と相同で VIP1 と同様の挙動を示すタンパク質が少なくとも 6 個存在するが、このような挙動を示すタンパク質は他に例を見ない。本研究では、植物の機械的ストレスへの応答について更なる知見を得ることを目的に、VIP1、VIP1 相同因子、VIP1 リン酸化・脱リン酸化制御因子の機能解析が行われた。

第 1 章では、研究全体の背景、意義、目的を述べている。

第 2 章では、VIP1 のリン酸化部位の保存配列に基づき、VIP1 が NDR/LATS 型のプロテインキナーゼによりリン酸化されるという仮説が示され、シロイヌナズナにおけるそのようなプロテインキナーゼ 8 個 (NDR1-8) の内少なくとも 3 個 (NDR2、NDR3、NDR8) が実際に *in vitro* で VIP1 をリン酸化することが示された。また、*NDR4 NDR6 NDR7* の三重機能欠損変異と *NDR4 NDR7 NDR8* の三重機能欠損変異はいずれも植物の成育に影響を与えないものの、*NDR4 NDR6 NDR7 NDR8* の四重機能欠損変異が胚致死を引き起こすことが示された。

第 3 章では、シロイヌナズナの PP2A の構成因子と VIP1 との間の相互作用について述べている。PP2A は A (足場)、B (制御)、C (触媒) の 3 個のサブユニットから成り、その基質特異性は主に B サブユニットにより決定され、B サブユニットはその構造から B、B'、B''、B''' のファミリーに分類される。シロイヌナズナには PP2A B''ファミリー B サブユニット遺伝子が 6 個存在し (*FASS*、*ATB'' α - ϵ*)、先行研究から VIP1 は *FASS* 及び *ATB'' δ* と相互作用することが示唆されていたが、本研究では *ATB'' α - γ* 及び *ATB'' ϵ* も VIP1 と相互作用することが示された。

また、市販の *in-vitro* 転写-翻訳反応試薬に ATB” δ を共存させることで VIP1 の脱リン酸化を誘導できることが示され、同様の系により、少なくとも FASS、ATB” α 、ATB” δ が *in vitro* で VIP1 及び VIP1 相同因子・bZIP29 の脱リン酸化を誘導することが示された。一方、ATB” α ATB” β ATB” γ ATB” ϵ 四重機能欠損変異体が作出されたが、根の接触屈性など複数の形質についてこの変異体の表現型は野生型と同様であることが示された。

第4章では、VIP1 と VIP1 相同因子遺伝子の内3個 (*PosF21*、*bZIP29*、*bZIP30*) の機能を欠損する変異体 (四重機能欠損変異体、QM) の作出とこれを用いた解析について述べている。QM の根の接触屈性は野生型と同様であるが、QM の花茎は野生型よりも長く、刷毛で葉に接触ストレスを与えた際の QM の生存率は野生型よりも低いことが示された。刷毛による接触ストレスを受けた葉のトランスクリプトームの解析から、野生型において接触ストレスにより誘導される遺伝子発現の一部が QM では見られないことが示された。QM において野生型よりも発現量が低い遺伝子のプロモーターには既知の VIP1 結合配列である AGCTG[TG] が高頻度で見出されることも示された。これらの結果は、VIP1・VIP1 相同因子と AGCTG[TG] が葉の機械的ストレスへの応答において重要であることを示唆する。

以上のように、本研究により、NDR/LATS 型プロテインキナーゼが VIP1 をリン酸化しうること、PP2A”ファミリーBサブユニットが VIP1 の脱リン酸化を促進すること、VIP1 と VIP1 相同因子が葉の機械的ストレスへの応答において重要であることが示された。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士 (農学) の学位請求論文として合格と認められる。