

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 最上 惇郎

本研究では、サブクラス III SnRK2 プロテインキナーゼと物理的に相互作用するタンパク質因子の同定を通じて、サブクラス III SnRK2 を介したシグナル伝達経路に関する新たな知見を得ることを目的とした。

第 1 章において、サブクラス III SnRK2 のうち SRK2D に着目し、植物体における SRK2D の相互作用因子の探索を行った。免疫沈降および LC-MS/MS 解析を組み合わせた手法により、25 個の SRK2D 相互作用候補因子を選抜した。候補因子と SRK2D との相互作用を酵母ツーハイブリッド法により検証し、酵母において CBL-interacting protein kinase 26 (CIPK26) が SRK2D と相互作用することを示した。CIPK26 と SRK2D との植物体における相互作用は、免疫沈降実験および BiFC 法によって再確認された。SRK2D 以外の他の SnRK2 と CIPK26 との相互作用解析を行い、CIPK26 はサブクラス II, III SnRK2 と相互作用することが示された。他方、SRK2D は、CIPK26 の他に CIPK26 に近縁な CIPK3、CIPK9、CIPK23 と相互作用することが示された。以上より、植物体内において SnRK2 と CIPK が物理的に相互作用し、何らかの生理応答を協調的に調節している可能性が考えられた。

第 2 章では、植物体における CIPK26、CIPK3、CIPK9 および CIPK23 遺伝子（以下、CIPK26/3/9/23）の機能を解析した。cipk26/3/9 三重変異体および cipk26/3/9/23 四重変異体を土植えて生育させたところ、ロゼット葉の先端および花芽の黄化を伴う植物体地上部の生育阻害が観察された。同様の表現型は、外界の Mg²⁺ および Ca²⁺ に対して異常な応答性を示す cax1/cax3 二重変異体でも報告されていたことから、これら cipk 多重変異体における生育阻害が、外界の Mg²⁺-Ca²⁺ 条件によって引き起こされている可能性が考えられた。そこで、水耕栽培系を用いて種々の外界 Mg²⁺ あるいは Ca²⁺ 濃度条件下におけるこれら cipk 多

重変異体の生育表現型を解析した。その結果、これら *cipk* 多重変異体は、外界の Mg^{2+} 濃度の低下に応じて生育阻害から回復することが示された。以上より、植物体において *CIPK26/3/9/23* は、高濃度の外界 Mg^{2+} 条件下において植物の生長を維持するために重要な役割を担っていることが明らかになった。

第3章では、サブクラス III SnRK2 が高濃度の外界 Mg^{2+} 条件下における植物の生長調節において何らかの役割を果たしているかどうかを検証した。高濃度の外界 Mg^{2+} 条件下における *srk2d/e/i*、*cipk26/3/9* 三重変異体および *cipk26/3/9/23* 四重変異体の生育を評価した。*cipk* 多重変異体は、高濃度の $MgCl_2$ (10 あるいは 20 mM $MgCl_2$) 含有培地において特徴的な生育阻害を示した。この評価系による生育試験により、20 mM $MgCl_2$ 含有培地において *srk2d/e/i* 三重変異体も顕著な生育阻害を示した。このことから、*CIPK26/3/9/23* に加えて、サブクラス III SnRK2 が高濃度の外界 Mg^{2+} 条件下における植物の生長維持において重要な役割を果たしていることが示された。次に、サブクラス III SnRK2 遺伝子と *CIPK26/3/9/23* との遺伝的相互作用を明らかにするために、*SRK2D/E/I* と *CIPK26/3/9/23* の双方が欠損した七重変異体、*srk2d/e/i/cipk26/3/9/23* を作出し、高濃度の外界 Mg^{2+} 条件下における生育を評価した。高濃度の $MgCl_2$ 含有培地において、*srk2d/e/i/cipk26/3/9/23* 七重変異体は *cipk26/3/9/23* 四重変異体と同程度の生育阻害を示した。これらの結果から、サブクラス III SnRK2 と *CIPK26/3/9/23* は、共通の経路を介して高濃度の外界 Mg^{2+} 条件下における植物の生長を調節していることが示唆された。

以上、本論文は、サブクラス III SnRK2 およびその相互作用因子であるプロテインキナーゼ *CIPK26/3/9/23* が、植物体において Mg^{2+} 感受性を調節する主要な調節因子としての新規な機能を担っていることを明らかにするとともに、高濃度の外界 Mg^{2+} 条件の土壌においても栽培可能な作物の分子育種へ利用できることを示唆したもので、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（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。