

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 姜 凱

---

アブシジン酸は非生物学的ストレスに対応して生合成が活性化され、それらストレスに対する植物の抵抗性を高めることが知られているが、これら現象と関連する重要な生理機能のひとつとして、発芽、根の伸長花の形成などをジベレリンと拮抗的に制御することが知られている。

まず第一章では、化学生物学、構造生物学そして分子生物学の結果を総合することで、最近になりABAの受容体としてPYR/PYL/RCARファミリー（以後PYLと呼称する）が報告されたこと、シロイヌナズナには14個のPYLホモログが存在していること、これらホモログ間における時空間的な発現量は違うことから、これらPYL間に機能の違いがあると考えられていることを述べている。しかしながら、現時点においては各々のPYL機能は未解明であるために、本研究ではここのPYLの機能の違いを明確にすることを目標として研究を行った。

第二章では 35S プロモータを使ってシロイヌナズナの PYL 過剰発現体を作成し、それらの形態やアブシジン酸応答性について調べている。それぞれの個体についてホルモン処理とストレス処理を行い PYL 過剰発現体の生理反応を観察した。観察は植物成長阻害を中心に行った結果、PYL の種類により個体が示す応答性が異なってくることを見出した。例えば PYL の種類と種の発芽、実生の形態形成、根の伸長には関係があることが明らかとなった。これら結果の中から、我々は特に PYL6 高発現体で観察される胚軸伸長阻害に着目した。アブシジン酸シグナル変異体を用いた解析の結果、アブシジン酸下流の転写因子 ABI4 と ABI5 は胚軸の成長を抑制していることが明らかとなった。また PYL6 過剰発現体の ABI5 の発現量は野生型株より高かった。以上より PYL6 の胚軸伸長の抑制効果は ABI5 を介していると考えている。一方胚軸伸長阻害が観察された個体では、ジベレリン処理による胚軸伸長阻害からの回復が観察された。又アブシジン酸で処理した場合でジベレリンの回復する効果は野生型株で観察されたが、PYL6 過剰発現体では観察されなかったことより、PYL を介したアブシジン酸とジベレリン間のクロストークが存在すると考えられた。

第三章では DELLA タンパク質を介したアブシジン酸とジベレリンのクロストークについて分子レベルでの解析を行った。アブシジン酸とジベレリンのクロストークはこれまで活発に研究されてきているが、そのメカニズムは未だ未解明である。第二章での結果より、PYL はこの二つシグナル系を利用することで胚軸調節機能を示すことが明らかとなっている。一方、DELLA タンパク質はジベレリン依存的にジベレリン受容体と結合しシグナルを制御しているが、これまでの知見から DELLA タンパク質は他の植物ホルモン機能関連転写因子や調節因子とも直接的に相互作用することで、ジベレリンと他の植物ホルモンとのクロストークを司っていることが報告されている。以上の事実より、PYL と DELLA の直接的な相互作用が存在する可能性があると考え、PYL と DELLA タンパク質環の相互作用について

てY2Hスクリーニング、BiFCとpull down assayにより検討を行った。その結果、PYL (PYL3、PYL5、PYL6、PYL11) と DELLA 間の直接的な相互作用を確認できた。これまで得られていた知見を利用して PYL の点変異を導入することにより、PYL のアブシジン酸との結合、その後の構造の変化が相互作用に重要であることが示唆された。一方、PYL と DELLA の相互作用に必要な部位を調べところ、PYL3 は DELLA domain と、PYL5、PYL6 又 PYL11 は GRAS domain と相互作用することを確認できた。PYL と DELLA そしてジベレリン受容体 GID1 の相互作用の関係性を調べるため、Y3H assay をおこなった。その結果、PYL3 と GID1 は GAI タンパク質の DELLA domain への結合に対して競争的であることが示唆された。この結果と関連して行った Western blotting の結果は、PYL (PYL5、PYL6、PYL11) と DELLA の相互作用が DELLA タンパク質の分解を抑える可能性を示唆していた。一方、第四章では DELLA タンパク質だけではなく、PYL (PYL5、PYL6、PYL11) は GRAS タンパク質とも直接的に相互作用することも確認できた。最後に本研究の総括と今後の展望を述べている。

以上の結果より、申請者はへとシグナルを伝達しているだけでなく、他の因子 (DELLA タンパク質又他の GRAS タンパク質) との相互作用を通して植物の成長と発育を調節している可能性を示唆している。

以上、本研究で申請者は、アブシジン酸のシグナルはアブシジン酸の受容体 PYL と PP2C を経由する既に確立された経路 (PYL-PP2C-SnRK2-TF/SLAC1/KAT1-gene expression-ABA responses) 以外に、PYL と DELLA タンパク質を経由する新しい経路を通して伝達される可能性を示しただけでなく、DELLA タンパク質以外の重要な成長制御因子を介している可能性も示した。アブシジン酸シグナルの研究は植物の成長、発育やストレスへの耐性メカニズムを解明するため重要な研究のひとつであり、そのメカニズム解明研究を通して、植物の成長を調節し、農業生産を引き上げることが可能である。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。