

## 審査の結果の要旨

氏名 佐藤 輝

本博士論文では、シロイヌナズナの環境ストレス誘導性転写因子である **DREB2A** の制御機構の解析とその応用的な利用法の検討を行っていた。シロイヌナズナの転写因子 **DREB2A** は乾燥ストレス条件下において遺伝子を誘導するためのシス配列である **DRE** に結合するタンパク質として単離され、シロイヌナズナの乾燥ストレス耐性の獲得に寄与することが明らかにされてきた。しかし、その後の研究により、**DREB2A** は乾燥ストレスだけでなく、高温ストレス誘導性遺伝子の発現応答にも寄与することが明らかにされた。このような乾燥と高温ストレスに特異的な標的遺伝子の発現をどのように選択して誘導しているのか、その詳細は明らかになっていなかった。本博士論文では、ヒトや酵母などにおいて **DNA** ポリメラーゼのサブユニットの一つとして報告のあるタンパク質の、シロイヌナズナにおける相同タンパク質である **DPB3-1** が、高温ストレス条件特異的な **DREB2A** の正の制御因子であることを明らかにし、また、高温ストレス条件下に **DREB2A**、**DPB3-1** と特異的な転写複合体を形成する、その他の候補のタンパク質を同定していた。第 1 章では、このような **DREB2A** の先行研究についての情報や研究課題についてまとめていた。

第 2 章では **DREB2A** の新規相互作用因子である **DPB3-1** の機能解析について述べられていた。**DREB2A** をベイトとした酵母のツーハイブリッドスクリーニングにより、**DPB3-1** が単離された。また、**DREB2A** と **DPB3-1** が酵母内だけでなく、試験管内や植物体内でも相互作用することが確認された。そして、**DPB3-1** を過剰発現したシロイヌナズナでは、高温ストレスに対する耐性が、コントロール植物よりも向上している一方で、乾燥ストレスに対する耐性には変化が見られなかった。また、この過剰発現体では、高温ストレス条件下において、高温ストレス誘導性の **DREB2A** 標的遺伝子の発現が向上しており、一方で、乾燥ストレス条件下における、乾燥ストレス誘導性の **DREB2A** 標的遺伝子の発現には変化が見られなかった。さらに、**DPB3-1** のノックダウン変異体では、高温ストレス耐性が低下しており、高温ストレス条件下における、高温ストレス誘導性の **DREB2A** 標的遺伝子の発現が低下していた。これらの結果から、

DPB3-1 が、高温ストレス条件下に特異的な DREB2A の正の制御因子であることが示唆された。

第 3 章では、DREB2A、DPB3-1 と転写複合体を形成する他のタンパク質の単離が試みられていた。ヒトや酵母における先行研究において、DPB3-1 がタンパク質複合体を形成することが報告されている。このことから、高温ストレス条件下に特異的に形成される、転写複合体が存在する可能性が示唆された。先行研究により相互作用が示唆されていたタンパク質ファミリーとの網羅的な相互作用解析を行い、また、それらのタンパク質をコードする遺伝子について、ストレス条件下における発現パターンを調べた結果、高温ストレス条件下に特異的に DPB3-1 と転写複合体を形成する候補として、NF-YA2 と NF-YB3 が単離された。シロイヌナズナの葉肉細胞由来のプロトプラスト内における、転写活性化実験の結果、DPB3-1、NF-YA2、NF-YB3 を DREB2A と共発現させると、レポーター活性を相乗的に上昇させることが明らかになった。これらの結果から、NF-YA2、NF-YB3、DPB3-1 からなる三量体が、高温ストレス条件下特異的に DREB2A と転写複合体を形成し、その活性を正に制御していることが示唆された。

そして、第 4 章ではシロイヌナズナ DPB3-1 を利用して、高温ストレス耐性の向上したイネを作出する試みについて述べられていた。シロイヌナズナ *DPB3-1* を過剰発現したシロイヌナズナでは、高温ストレス耐性が向上していた一方で、植物の生育には変化が見られなかった。このことが、他の作物でも再現されるかを確かめるために、シロイヌナズナ *DPB3-1* を過剰発現したイネを作出したところ、*DPB3-1* 過剰発現イネでは、コントロール植物と比較して、やはり生育には変化がなく、高温ストレス耐性が向上していることが示された。このことから、シロイヌナズナ DPB3-1 が、高温ストレス耐性を向上した作物の分子育種に役立つ可能性が示唆された。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章までの結果をまとめると共に、今後の課題などが示されていた。

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、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のあるものと認めた。

