

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 樽谷 芳明

---

細胞外の受容体様領域、膜貫通領域、細胞内のキナーゼ領域から成る受容体様キナーゼ (RLK) は、植物固有の受容体であり、細胞外のリガンドによる刺激に伴いキナーゼ領域が活性化され、細胞内標的タンパク質をリン酸化することで細胞外からの情報を細胞内へ伝達すると考えられている。シロイヌナズナのゲノム上には約 600 種類の RLK が存在しているが、その機能及びリガンドが判明しているものは、ごく僅かなものに限られる。本博士論文研究では、このような RLK のなかで、高い相同性を示す *RLK902* と *RKL1* がどのような情報伝達に関与しているかを多面的に検討した。

第 1 章では、変異体を用いた *RLK902*, *RKL1* の機能解析を試みている。T-DNA 挿入変異体 *rlk902* や *rk11* は、通常の生育条件下で明瞭な変異形質を示さなかったが、*rlk902/rk11* 二重変異体も通常の生育条件下では変異形質を示さなかった。また、誘導性プロモーター制御下で *RLK902* cDNA を発現するシロイヌナズナ形質転換体も、誘導条件下での発現誘導は認められたものの、変異形質は認められなかった。このことから、RLK には相補的に働く他の RLK が存在する可能性や、その情報伝達経路には、相補的な経路が別に存在している可能性が示唆され、変異体を用いた遺伝学的手法による RLK の機能解析は困難であると考えられた。

第 2 章では、プロモーター-GUS 形質転換体を作製し、それぞれの遺伝子の組織特異的発現や各種ストレス処理による発現応答を検討している。*RLK902* は根において先端や側根原基で強い GUS 活性が認められ、維管束においても GUS 活性が認められた。地上部では、托葉・花器官離層形成領域で GUS 活性が認められた。このように根では細胞分裂が盛んな場所に局在して発現しているのに対して、地上部では細胞死や老化等を連想させる部分で発現しており、本遺伝子機能の複雑さが示された。一方、*RKL1* は根において維管束で GUS 活性が認められたが、先端では GUS 活性は認められなかった。地上部では、葉の排水構造・トライコーム、花糸の先端、葯・がく・花茎の孔辺細胞、花器官離層形成領域で GUS 活性が認められた。以上の結果から、*RLK902* と *RKL1* は基本的な発現場所が異なるために生物学的には重複する機能を持っていないことが判明した。また、プロモーター領域に W-box が存在することから両 RLK のサリチル酸や病原菌感染への応答性が期待されたが、RT-PCR による解析からサリチル酸処理や病原菌感染により両 RLK の発現が一過的に減少することが判明し、これらのストレス応答に関与している可能性は低くなった。

第 3 章では、*RLK902*, *RKL1* のキナーゼ領域を用いた yeast two-hybrid 法によるスクリーニングを行い、相互作用因子を取得している。それぞれのスクリーニングで取得されたクローンのうちの 4 種類 (Y-1, 2, 3, 4) が両 RLK で取得されたことから、両 RLK が生化学的には相同な機能を有する可能性が示唆された。*in vitro* での実験結果から、今回取得

されたクローンは標的タンパク質ではないと考えられたが、両 RLK のリン酸化能の調節に働く可能性が示唆された。また、Y-1、2、3 についてサリチル酸や病原菌感染への応答性を解析し、これらのストレスにより Y-1、2 の発現が一過的に増加することが、Y-3 の発現は一過的に減少することが判明した。

以上、本論文は受容体様キナーゼ RLK902 および RKL1 の発現と機能についての研究を行い、発現の組織特異性の解明し、キナーゼ領域との相互作用因子を取得しており、両 RLK が介する情報伝達経路の解明に向けて、学術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。