

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 木村 智子

第1章では、研究の背景と目的を述べている。硫黄は高等植物の必須多量元素であり、システインやメチオニン、グルタチオン (GSH) など、様々な化合物を構成するとともに、タンパク質の構造維持にも関与しており、生体内で重要な役割を果たしている。硫黄欠乏応答性の遺伝子は、O-アセチル-L-セリン (OAS) によって発現が誘導され、逆に GDH やシステインによって抑制されることから、OAS は硫黄欠乏応答の正のシグナル、GSH およびシステインは負のシグナルであると考えられているが、これらを検知し、伝達する仕組みの全貌は未解明である。こうした制御因子を探索することを目的に、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて研究を行った。

第2章では、シロイヌナズナにおける、緑色藻類クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) の硫黄応答制御因子 *SAC3* 相同遺伝子欠損株の生理解析を行っている。*SAC3* は、硫黄欠乏時の積極的な硫酸吸収および硫黄十分時のアリルスルファターゼの発現抑制という、硫黄欠乏応答のそれぞれ正および負の制御を行っている。シロイヌナズナには 10 個の *SAC3* 相同遺伝子 *SNRK2.1-SNRK2.10* が存在し、このうちの *SNRK2.3* 遺伝子は、硫黄欠乏 (-S) および OAS 添加により発現誘導を受けており、硫黄欠乏応答性の遺伝子であることが明らかになった。また、三系統の *snrk2.3* 変異株では、-S による硫酸トランスポーター *SULTR2;2* 遺伝子の発現誘導が抑制されており、硫黄欠乏時の OAS 濃度が増加していた。これらの結果から、*SNRK2.3* はおそらく、硫黄欠乏時に OAS が過剰に蓄積するのを防ぐ一方で、*SULTR2;2* の発現を積極的に誘導すると考えられる。これらは、硫黄欠乏応答をそれぞれ負および正に制御していることを示しており、クラミドモナスの *SAC3* と共通している。

第3章では、シロイヌナズナの OAS 非感受性変異株 *oda* の生理学および遺伝学的解析を行っている。-S により GFP 蛍光を発する形質転換シロイヌナズナ系統 NOB7 が用いて、OAS を添加した際にレポーター活性が低下した OAS 非感受性変異株 *oda* (OAS decreased accumulation) が複数単離されている。このうちの 3 系統 *oda1-1*、*oda2-1*、*oda3-1* について生理学および遺伝学的解析を行った。

三系統の *oda* 変異株はいずれも、OAS 添加時および -S 条件で GFP 蛍光強度が NOB7 と比較して顕著に低下していたが、GFP の mRNA 蓄積量は変化しておらず、タンパク質の mRNA の安定性や翻訳効率が低下している可能性がある。*oda* 変異株はいずれも硫黄代謝系の代謝産

物量や遺伝子発現が大きく変化していた。*oda1-1*変異株は、硫酸イオンおよびセリン濃度、*APR1*遺伝子の発現が硫黄条件に関わらず低下し、クロロフィル量も減少していることから、おそらく光合成活性の低下によってこうした表現型を示すものと考えられた。*oda2-1*変異株は、硫酸イオン濃度が+S、-Sともに減少しており、OASおよびGSH濃度が-Sにおいて有意に減少していた。*SULTR2;2*の発現は統計的に有意に上昇していたが大差はなかった。*oda3-1*変異株は、非常に代謝変化に富んだ変異株であり、OASのように硫黄条件に関わらず減少しているものもあれば、GSHや*APR1*遺伝子のように、+Sと-Sでその挙動が異なるものが複数あることが特徴的である。また、マイクロアレイの結果*APR1*以外にも多くの遺伝子の発現が著しく変化していた。

マッピングおよびシーケンスの結果、*oda1-1*変異株はRNAポリメラーゼシグマ因子SIG2をコードする遺伝子に変異があった。また、*oda3-1*変異株はCa²⁺-binding EF-hand proteinをコードする遺伝子At1g54450に変異があり、このタンパク質はカルシウムセンサーとしてストレスやホルモン応答に関与すると予測されることから、+Sと-Sの栄養状態のシグナル伝達に関与している可能性が想定される。*oda3-1*変異株ではこうしたシグナル伝達が正常に行われないうちに、代謝が大きく変化していると推定できる。

第4章では本研究において見出したSNRK2.3、RNAポリメラーゼシグマ因子SIG2、カルシウム結合タンパク質Ca²⁺-binding EF-hand proteinの硫黄応答における役割について考察している。

以上要するに、本研究は高等植物の硫黄栄養の応答制御に関与するSNRK2.3、RNAポリメラーゼシグマ因子、カルシウム結合タンパク質の同定であり、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）の学位として価値あるものと認めた。