

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 溝口 昌秀

---

本論文の第 I 章では研究の背景や問題点、目的について述べた。浸透圧ストレスや ABA によって活性化する SnRK2 (SNF1-related protein kinase 2) ファミリーは、植物に固有のプロテインキナーゼである。シロイヌナズナには 10 個 (SRK2A~J/SnRK2.1~2.10) 存在し、C 末端にある酸性アミノ酸に富む配列によってサブクラス I からサブクラス III まで分類される。サブクラス III SnRK2 は ABA によって強く活性化し、乾燥ストレスをはじめとする ABA シグナル伝達の主要な構成因子として重要な役割をはたすことがわかっている。一方、他のサブクラス I やサブクラス II SnRK2 に関しては、環境ストレス応答に関わることが示唆されているものの、それらの役割は不明である。そこで、本研究ではサブクラス I SnRK2 (SRK2A, B, G, H) およびサブクラス II SnRK2 (SRK2C, F) について、生化学的あるいは逆遺伝学的な手法を中心として植物における機能を解析した。

第 II 章では本研究における実験材料および方法について記述し、続く第 III 章でサブクラス II SnRK2 の研究結果について述べた。サブクラス II SnRK2 はシロイヌナズナでは SRK2C と SRK2F の 2 個存在している。サブクラス II SnRK2 の機能解析を行うにあたって、2 重変異体 *srk2cf* を作成した。マイクロアレイ解析の結果から、*srk2cf* において多くの乾燥ストレス誘導性遺伝子の発現が野生型植物より低下しており、それらの中には ABA 応答性遺伝子が多数含まれていることが明らかとなった。サブクラス III SnRK2 の制御下にある遺伝子と多くの重複が認められた。しかし、サブクラス III SnRK2 の 3 重変異体 *srk2dei* に比べると *srk2cf* の効果は弱く、サブクラス II SnRK2 の機能は部分的にサブクラス III と重複していることが示唆された。これを裏付けるように、サブクラス II SnRK2 はサブクラス III のリン酸化ターゲットである AREB/ABF ファミリーの転写因子と相互作用するだけでなく、AREB/ABF をリン酸化する能力を有することが明らかとなった。しかし、ABA 処理時の遺伝子発現は *srk2cf* と野生型植物の間においてほとんど差が見られなかったことから、ABA シグナル伝達におけるサブクラス II SnRK2 の機能は限定的であり、乾燥ストレスのシグナル伝達因子としてサブクラス III SnRK2 とともに補助的に機能していることが示唆された。

第 IV 章ではサブクラス I SnRK2 の機能解析について述べた。サブクラス I SnRK2 はシロイヌナズナでは SRK2A、SRK2B、SRK2G、SRK2H、SRK2J の 5 個存在している。本研究ではサブクラス I SnRK2 のうち、浸透圧ストレスで活性化する SRK2A、SRK2B、SRK2G および SRK2H の 4 個の遺伝子を対象に研究を行った。遺伝子発現の組織特異性と細胞内局在はメンバー間で重複したため、サブクラス I SnRK2 の植物内における機能的な冗長性が考えられた。そこで冗長性の問題を回避するため、サブクラス I SnRK2 の機能解析を行うにあたっては 4 重変異体 *srk2abgh* を作製し解析を行った。マイクロアレイ解析の結果から、乾燥ストレス下の *srk2abgh* において多くのサリチル酸応答性遺伝子の発現が野

生型植物に比べて増加していることが明らかとなった。また、*srk2abgh*において発現が増加していたこれらの遺伝子は、通常は乾燥ストレスによって発現が減少する遺伝子であることも分かった。さらに、乾燥時の *srk2abgh* におけるイソロイシン結合型ジャスモン酸の蓄積量は野生型植物の半分程度に減少していることが明らかとなった。これにより、*srk2abgh* では乾燥ストレス時におけるジャスモン酸とサリチル酸の拮抗作用が弱まった結果、サリチル酸応答性遺伝子が強発現しているものと考えられた。

最後に第 V 章において総合考察について述べた。本研究では、シロイヌナズナの SnRK2 ファミリーの中でサブクラス I・II について詳細な機能解析を行った。本研究によって、すべての SnRK2 ファミリーの機能が網羅的に解析され、それぞれの役割や機能分担を整理することができた。今後は SnRK2 が介在するシグナル伝達ネットワークの全貌解明のために、それぞれの SnRK2 の下流の標的タンパク質や浸透圧ストレスによる活性化制御のメカニズムを明らかにすることによって、植物の環境ストレス応答のより深い理解につながることを期待される。

本論文は、植物のプロテインキナーゼである SnRK2 ファミリーのサブクラス I・II について詳細な機能解析を行い、浸透圧ストレスや植物ホルモンの ABA の存在下におけるこれらのプロテインキナーゼの役割を明らかにしたものである。これらの知見は植物の環境ストレス応答や耐性の獲得におけるシグナル伝達ネットワークの全容解明に貢献するものと期待される。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。