

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉田 拓也

第1章では、本研究の背景および目的について述べた。植物ホルモンのアブシシン酸 (ABA) は、乾燥や高塩濃度などの水ストレス時に細胞内濃度が上昇し、それが引き金となってストレス耐性に機能する多くの遺伝子の発現が誘導される。これら ABA 誘導性遺伝子の多くはそのプロモーター領域に ABA 応答配列 (ABRE) をもち、ABRE 配列に結合するタンパク質として AREB/ABF 転写因子が単離された。シロイヌナズナゲノム中には 9 個の AREB/ABF 転写因子が存在するが、そのうち AREB1, AREB2, ABF3 は乾燥、塩、または ABA 処理により栄養生長期の植物体で発現が誘導される。主に過剰発現体を用いた解析から、これら 3 個の AREB/ABF 転写因子が ABA シグナル伝達の正の制御因子として乾燥ストレス耐性の獲得に関与していることが示唆されていたが、AREB1, AREB2, ABF3 についての網羅的な解析はなされておらず、その機能がどの程度重複しているかは明らかにされてこなかった。

本研究では、植物の水ストレス応答における ABA シグナル伝達の分子機構を解明する目的で、シロイヌナズナ AREB1, AREB2, ABF3 転写因子の機能解析をおこなった。また、AREB1 をイネに過剰発現させることで乾燥ストレス耐性イネの作出を試みた。

第2章では、シロイヌナズナ AREB/ABF 転写因子の機能解析について述べた。ABA を介した水ストレス応答において同様の機能をもつことが示唆されていた AREB1, AREB2, ABF3 について、その機能的重複性を明らかにするため、AREB/ABF タンパク質の細胞内局在性や転写活性化機構を解析した。AREB1, AREB2, ABF3 タンパク質は細胞内核局在性、ABA による転写活性化、および SRK2D タンパク質キナーゼとの相互作用について同様であり、これらの結果から AREB1, AREB2, ABF3 が機能的に重複した転写因子であることが示唆された。

機能的に重複していることが示唆された AREB/ABF 転写因子について、さらに植物体における機能を明らかにするため、*areb1 areb2 abf3* 三重変異体を用いて解析をおこなった。*areb1 areb2 abf3* 三重変異体は野生型植物やその他の一重および二重変異体と比較して顕著に乾燥ストレス耐性が低下しており、栄養生長期の主根の伸長における ABA 感受性も著しく低下していた。さらに、網羅的なトランスクリプトーム解析により、*areb1 areb2 abf3* 三重変異体では水ストレス時に水ストレス応答性遺伝子の発現が大きく損なわれていることが示された。このマイクロアレイ解析により同定された新規 AREB/ABF 下流遺伝子の多くはプロモーター領域に機能的な ABRE 配列を保持しており、多数の LEA タンパク質遺伝子、グループ A PP2C タンパク質脱リン酸化酵素遺伝子、転写因子遺伝子が含まれていた。

以上の結果から、AREB1, AREB2, ABF3 が水ストレス応答時の ABA による ABRE 配列を介した遺伝子発現制御において中心的な転写因子として協調的に機能し、その活性化には ABA が必要であることを明らかにした。

第3章では、シロイヌナズナ AREB1 をイネに過剰発現させることで乾燥ストレス耐性イネの作出を試みた。AREB1 を過剰発現する形質転換イネは幼植物体においてわずかな生育の遅延を示したが、乾燥ストレス耐性の向上を示した。また、出穂期の植物体ではコントロール植物と比較して乾燥ストレスによる葉の老化が遅くなり、乾燥ストレスによる収量の低下が緩和された。これらの結果から異所的に発現したシロイヌナズナ AREB1 がイネの乾燥ストレス耐性の獲得に寄与していることが示唆された。

第4章では、本研究で得られた結果を結論としてまとめた。本研究により、シロイヌナズナ AREB1, AREB2, ABF3 が水ストレスに応答した ABA による ABRE 配列を介した遺伝子発現制御において中心的な役割をはたしていることを明らかにした。また、AREB/ABF の最大転写活性化には ABA が必要であることを示し、その機構が陸上植物で保存されていることが示唆された。加えて、網羅的なトランスクリプトーム解析により AREB/ABF 転写因子の新規標的遺伝子を多数同定し、ABA による ABRE 配列を介した LEA タンパク質遺伝子、PP2C タンパク質脱リン酸化酵素遺伝子、転写因子遺伝子の発現が乾燥ストレス耐性の獲得に重要であることを示した。さらに、シロイヌナズナ AREB1 をイネに過剰発現させることで乾燥ストレス耐性が向上することを示し、AREB/ABF 転写因子が水ストレス耐性イネの分子育種に有用であることが示唆された。

本論文は、乾燥ストレス下において合成される植物ホルモンの ABA による遺伝子発現制御機構に関わる転写因子を同定し、その標的遺伝子群を明らかにすることで植物の乾燥ストレス耐性の獲得機構におけるこれらの転写因子の役割を明らかにしたものである。また、同定された転写因子をイネ等の作物に導入することで高い乾燥耐性を付与することも明らかにしたことから、環境ストレス耐性作物の分子育種法の開発にも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。