

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 都築 朋

論 文 題 目

植物ホルモン・アブシジン酸に応答した気孔閉鎖のシグナル伝達機構の解析

### 論文審査担当者

主 査 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 教授  
博士(理学) 木下 俊 則

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 教授  
博士(理学) 東山 哲也

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 医学博士 木藤 伸夫

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任准教授  
博士(農学) 中道 範人

## 論文審査の結果の要旨

申請者は、気孔開閉のシグナル伝達機構を解明するため、モデル植物であるシロイヌナズナの葉の重量変動を指標にした気孔開度変異体のスクリーニングにより単離された変異体 *rtl*(*rapid transpiration in detached leaves*) 1 の解析を行った。*rtl* 変異体は、矮性でペールグリーンの表現型を示し、気孔の表現型について調べた結果、気孔閉鎖に関与する植物ホルモン・アブシジン酸(ABA)に応答した気孔の閉鎖がみられないABA非感受性の表現型を示すことが明らかとなった。そこで、*rtl* 変異体の変異個所の同定を行った結果、第5染色体の Mg-キラターゼ H サブユニット(*CHLH*)にミスセンス変異(L690F)を持つことを明らかにした。*CHLH* は、クロロフィル生合成に関わる酵素、Mg-キラターゼを構成するサブユニットの一つであり、近年、ABAとの結合能からABA受容体としても機能し、種子発芽や根伸長、気孔閉鎖等、様々なABA応答に関与することが報告されていた。しかしながら、本研究の解析の結果、組換え *CHLH* タンパク質とABAの特異的な結合は観察されず、さらに、*rtl* 変異体は種子発芽や根伸長において正常なABA応答を示すことが明らかとなった。これらの結果から、申請者は、*CHLH* は ABA 受容体そのものではないが、気孔孔辺細胞特異的に ABA シグナル伝達経路に関わっていると結論した。

つぎに、*CHLH* の ABA シグナル伝達機構における役割について解析を進めた。気孔孔辺細胞においては、ABA 処理によって細胞質の  $Ca^{2+}$ 濃度が上昇し、 $Ca^{2+}$ がセカンドメッセンジャーとして機能することが知られている。そこで、 $Ca^{2+}$ の気孔開度に対する影響を調べ、*rtl* 変異体の気孔は、高濃度の  $Ca^{2+}$ を処理すると、ABAによる気孔閉鎖が誘導されることを見出した。さらに、*CHLH*を気孔で過剰発現させた形質転換植物の解析を行ったところ、興味深いことに、過剰発現株では気孔が常に閉じ気味であり、ABA 高感受性の気孔閉鎖反応を示し、野生株がほとんど枯死する乾燥条件でも、*CHLH* 過剰発現植物は生存できることを明らかにした。また、ABA は気孔閉鎖を誘導するだけでなく、気孔開口に関与する孔辺細胞細胞膜  $H^+$ -ATPase のリン酸化による活性化を阻害することで気孔の開口を阻害し、効率的に気孔を閉鎖させることが知られている。そこで、申請者は、*rtl* 変異体における ABA による青色光に依存した  $H^+$ -ATPase のリン酸化の抑制を調べ、*rtl* 変異体では ABA に応答した  $H^+$ -ATPase の活性化阻害が見られないことを明らかにした。さらに、申請者は、*CHLH* を孔辺細胞に過剰発現させることで、植物に乾燥耐性を付与することを見出し、本技術を実用植物に適用することで、乾燥に対して耐性をもつ植物の作出が期待される成果を得た。

クロロフィル生合成において、Mg-キラターゼは D、H、I 各サブユニットの複合体で機能することが知られている。そこで、申請者は、Iサブユニット(*CHLI1*)のノックアウト変異体の気孔の表現型を調べ、*chli1* 変異体は、*rtl* 変異体と同様に ABA 非感受性を示し、*CHLH* は *CHLI* とともに Mg-キラターゼ複合体として ABA シグナル伝達に影響を与えていることを明らかにした。

このように、申請者は、*CHLH* は ABA 受容体としてではなく、細胞内  $Ca^{2+}$ 変動を介して、孔辺細胞特異的に ABA シグナル伝達経路に関与していること、また、*CHLH* は細胞膜  $H^+$ -ATPase の脱リン酸化を介した気孔開口の阻害にも関与を明らかにし、混沌としていた *CHLH* の ABA シグナル伝達における役割を明確にした。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。