

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 富 山 将 和

論 文 題 目

気孔開度変異体の単離と新奇気孔開度制御遺伝子の同定

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 農学博士 吉 岡 泰
- 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

植物の表皮に存在する気孔は、一对の孔辺細胞により構成され、変化する環境に応じてその開度を調節することにより、植物と大気間のガス交換を制御している。これまでの研究により、気孔は青色光に応答して開口して光合成に必要な二酸化炭素取り込みを行い、植物が乾燥ストレスに曝されると、植物ホルモンであるアブシジン酸に応答して閉鎖し、植物体からの水分損失を防ぐことが明らかとなっているが、気孔開度制御のシグナル伝達経路については未だ不明な点が多く残されている。

申請者は、気孔開度制御に関わる新奇因子を同定するために、赤外線サーモグラフィを用いた葉の表面温度測定により、変異原処理をしたシロイヌナズナにおける気孔開度変異体のスクリーニングを行った。その結果、通常の生育条件下において気孔が顕著に開口した *lost* 変異体を6株 (*lost1*-*lost6*)、気孔が閉鎖した *hist* 変異体を2株 (*hist1*, *hist2*) 単離した。解析の結果、このうち3株の突然変異体 *lost2*, *lost3*, *lost5* の原因遺伝子はそれぞれ、既知の気孔開度変異体の原因遺伝子であるアブシジン生合成酵素 *ABA2*, *ABA3*、気孔閉鎖に関わるアニオンチャネル *SLAC1* であることが示唆され、本スクリーニングが気孔開度変異体の単離に有用であることが示された。そこで、さらに他の新奇気孔開度変異体について詳細な解析を進めた。

新奇気孔開度変異体 *lost1* は、気孔が恒常的に開口しており、ペールグリーンの表現型を示す。ゲノムマッピング、シーケンスと相補実験の結果、*lost1* 変異体の原因遺伝子はクロロフィル合成酵素 Mg-キラーターゼの I サブユニット 1 (*CHL1*) であることが明らかとなった。さらに、*lost1* 変異体の気孔のアブシジン酸応答を調べた結果、アブシジン酸低感受性の表現型を示した。さらに本研究では、同じくクロロフィル合成酵素である Mg-プロトポルフィリン IX メチルトランスフェラーゼ (*CHLM*) の突然変異体 *chlm* と、クロロフィル合成と前駆体を共有しているフィトクロモビルン合成酵素 *GUN2* と *GUN3* の変異体 *gun2* と *gun3* の解析を行い、これらの突然変異体の気孔もアブシジン酸低感受性の表現型を示すことが明らかとなり、葉緑体におけるクロロフィルやフィトクロモビルンのテトラピロール色素の生合成経路が、気孔のアブシジン酸応答に影響することを明らかにした。次に、申請者は、気孔が恒常的に顕著に開口しており、ペールグリーンの表現型を示す *lost4* 変異体の解析を行った。その結果、この変異体の原因遺伝子が葉緑体タンパク質 *ClpC1* であることを明らかにした。*ClpC1* は、葉緑体ストロマに存在する Clp プロテアーゼ複合体の C1 サブユニット (*ClpC1*) として機能することが知られている。そこで、Clp プロテアーゼ関連タンパク質である ClpB3 の突然変異体の気孔の表現型解析を行い、*clpb3* 変異体はペールグリーンの表現型とともに非常に顕著な気孔開口を示すことを見出し、ClpC1 や ClpB3 が関わる Clp プロテアーゼの機能が気孔開度制御に重要であることが明らかとなった。

このように申請者は、赤外線サーモグラフィを用いたスクリーニングにより、シロイヌナズナより気孔開度変異体を単離し、気孔開度制御に関わる新奇因子 (*CHL1*, *ClpC1*) を同定し、葉緑体におけるクロロフィルやフィトクロモビルンのテトラピロール色素の生合成経路や Clp プロテアーゼが気孔開度制御に重要であることを明らかにした。

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。