

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 気孔開口を誘導する青色光シグナル伝達の研究

氏 名 林 真妃

## 論 文 内 容 の 要 旨

固着生活を営む植物は決められた場所で生育するため、様々な環境の変化を素早く察知し、成長と発達を最適化しなければならない。そのための生存戦略として、動物にはない特有の組織・器官構造や生理応答を有している。植物の表皮に多く存在する気孔もその一つであり、植物体内と外界をつなぐ唯一の孔として機能している。植物はこの気孔から光合成の基質である二酸化炭素を取り込み、副産物である酸素の放出を行っている。また、気孔は蒸散による水の放出も担い、日中の葉面温度の上昇を防止し、かつ植物の根において土壌からの水と無機塩類の吸収を促進している。気孔は一对の孔辺細胞からなり、太陽光に含まれる青色光に応答して開口する。孔辺細胞に青色光が照射されると、細胞内で青色光受容体であるフォトトロピン (phot1, phot2) が光を受容し、シグナル伝達を誘導する。フォトトロピンの基質である BLUS1、下流で機能する PP1 へと伝達されたシグナルは、その後、細胞膜に存在する細胞膜  $H^+$ -ATPase の C 末端 Thr 残基をリン酸化する。この部位がリン酸化されて活性化した細胞膜  $H^+$ -ATPase が気孔開口に必要な駆動力を生み出し、最終的に気孔が開口する。このように、気孔開口において細胞膜  $H^+$ -ATPase は重要な働きを担うが、フォトトロピンから  $H^+$ -ATPase の活性化に至るシグナル伝達の詳細は未だ完全には明らかになっていない。

本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、青色光に応答した孔辺細胞  $H^+$ -ATPase のリン酸化を可視化する免疫組織染色法を確立した。この方法は、これまでの

孔辺細胞プロトプラストを単離してリン酸化を検出する方法よりも簡便で、より生理条件に近い孔辺細胞のリン酸化応答を検出可能にした。また、この方法を用いることで複数の変異株系統の  $H^+$ -ATPase のリン酸化を同時に比較できるようになり、植物ホルモン・アブシジン酸 (ABA) が、初期シグナル伝達経路 (PYR/PYL/RCAR-PP2Cs-SnRK2s) を介して生理的濃度で完全に  $H^+$ -ATPase のリン酸化を阻害し、気孔開口阻害を引き起こしていることを明らかにした。

さらに、確立した免疫組織染色法を用いて、細胞膜  $H^+$ -ATPase のリン酸化を抑制するプロテインキナーゼ阻害剤をスクリーニングし、シロイヌナズナにおける標的キナーゼの推定を通して、青色光による気孔開口を仲介する新規プロテインキナーゼ **BLUE LIGHT-INDUCED  $H^+$ -ATPASE PHOSPHORYLATION (BHP)** を同定した。このキナーゼの変異株では、青色光による孔辺細胞  $H^+$ -ATPase のリン酸化が誘導されず、気孔開口も抑制されていた。また、**BHP** タンパク質は孔辺細胞に多く発現し、細胞質に局在していた。さらに、気孔開口を仲介する既知のシグナル伝達因子と **BHP** の相互作用を調べ、**BHP** が **BLUS1** と強く相互作用することを見出した。以上の結果から、**BHP** は孔辺細胞において、**BLUS1** と共に働いて青色光シグナルを下流へと伝達し、 $H^+$ -ATPase をリン酸化して気孔開口を正に制御していることを明らかにした。