

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 林 真妃

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

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 教授 博士(農学) 松 林 嘉 克

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

植物の表皮には、一対の孔辺細胞からなる気孔と呼ばれる孔が多数存在し、植物はこの気孔を通じて光合成に必要な二酸化炭素の取り込みや蒸散や酸素の放出など、植物と大気間とガス交換を行っている。気孔は、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フォトトロピンが光を受容し、細胞内シグナル伝達を介して細胞膜 H^+ -ATPase がリン酸化されて活性化し、気孔開口のためのイオン輸送の駆動力が生み出される。しかしながら、気孔開口に重要なこの孔辺細胞の細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化がどのように調節されているのか、その青色光シグナル伝達の詳細は未だ不明の部分が多い。

これまで青色光に応答した孔辺細胞の細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化を検出するには、植物の葉から単離した孔辺細胞プロトプラスト (GCPs) が用いられてきた。しかしながら、GCPs の単離には、大量の植物の葉が必要であり、6 時間以上の時間がかかること、さらに細胞に様々なストレスがかかることが知られていた。そこで申請者は、免疫組織染色法の開発に取り組み、シロイヌナズナの数枚の葉の表皮を用いて青色光による細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化を検出可能な新たな手法の確立に成功した。またこの手法は、GCPs を用いた実験と比較して、より生理条件に近い状況で孔辺細胞の細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化を検出できることが明らかとなり、気孔開閉のシグナル伝達研究において有用であることが示された。

次に申請者は、確立した免疫組織染色法を利用し、気孔開口のシグナル伝達において、フォトトロピンの下流で H^+ -ATPase のリン酸化を調節する新規因子の探索を行った。これまでの薬理学的研究から、未知のプロテインキナーゼがフォトトロピンと H^+ -ATPase の間のシグナル伝達を仲介すると考えられていた。そこで申請者は、プロテインキナーゼ阻害剤ライブラリーの中から青色光に応答した H^+ -ATPase のリン酸化を特異的に抑制する阻害剤のスクリーニングを行い、4 種の阻害剤を同定した。哺乳類では、これらの阻害剤の標的キナーゼが既知であったため、シロイヌナズナのゲノムから相同性の高いプロテインキナーゼを相同性検索により探索した。その結果、Raf 様キナーゼ・ファミリーが候補として挙がり、それらの中で孔辺細胞における発現が多い 12 遺伝子のノックアウト変異株を用いた気孔の表現型解析を行い、BLUE LIGHT-DEPENDENT H^+ -ATPASE PHOSPHORYLATION (BHP) を同定した。BHP のノックアウト変異株では、青色光に応答した孔辺細胞 H^+ -ATPase のリン酸化と気孔開口が見られないことから、BHP は青色光による気孔開口の正の調節因子であることが示された。一方で、BHP のノックアウト変異株においても、細胞膜 H^+ -ATPase の活性化剤であるカビ毒素フシコクシンによる細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化は正常に観察されることから、BHP は細胞膜 H^+ -ATPase を直接リン酸化するキナーゼではないことが示された。また、この変異株では、フォトトロピンが誘導する他の青色光応答は正常であることから、BHP はフォトトロピンの機能には影響を与えていないことが示された。さらに、BHP タンパク質はフォトトロピンの孔辺細胞における基質である BLUS1 と強く相互作用することが明らかとなった。以上の研究により、申請者は自ら開発した免疫組織染色法と化学遺伝学の組み合わせにより、気孔の青色光シグナル伝達における新たな因子 BHP を同定した。この結果は、植物における光シグナル伝達機構の理解を前進させる重要な発見と考えられる。

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