論文内容の要旨

申請者氏名 鄭 貴美

本研究では、タバコ植物の防御応答時に働く代表的なMAPKであるWIPKと相互作用する蛋白質、NtWIF の機能を解析した。さらにその下流標的遺伝子の探索を行った。

NtWIFはWIPKによりリン酸化され、それにより転写活性化能が上昇する転写因子であることを明らかにした。ミュータントの解析からN-末端に存在するThr-Proサイトがリン酸化の標的であることも示した。NtWIFの過剰発現植物体と発現抑制植物体を作製し、ストレスによる応答を検討したところ、過酸化水素の発生量を調整し、病原菌による被害を抑制することが分った。次にマイクロアレイ解析によりNtWIFにより発現が上昇する遺伝子を網羅的に選抜し、それらの発現を野生株とRNAi株との比較から再選抜することにより標的遺伝子と思われる遺伝子を同定した。その結果、PR-Q, glucanase, P-450、そしてACS2などの遺伝子が得られた。実際、PR-Q遺伝子の場合、そのプロモーターを用い、ルシフェラーゼレポーター活性を調べた結果、PR-Qは明らかにNtWIFによって転写が調節されることが分った。さらに、マイクロアレイの結果、細胞分裂、細胞骨格関連遺伝子群が高い比率で存在していた事からNtWIFは防御応答以外、植物成長や発達など通常生理機構にも関与することが予想された。NtWIFの発現抑制株では、種子の胚や胚乳が未発達で、発芽や鞘の大きさが抑制された。側根や主根の発達も阻害された。これらの結果から、NtWIFは防御応答だけではなく、植物の正常な成長発達にも重要な働きをもつことが明らかになった。これらの結果は、転写因子としてのNtWIFの機能を明らかにしただけではなく、NtWIF を介したWIPKカスケードがストレス以外の生理機構にも関与してする事を示唆する。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 鄭 貴美

MAPK カスケードは重要なシグナル伝達経路として知られている。ストレスによるシグナルが MAPK カスケードを通じて細胞内、核へ伝わる事により、最終的には遺伝子発現を伴った抵抗反応が引き起こされる事はよく知られている。しかし、MAPK カスケードを通ったシグナルが MAPK のリン酸化以後、どの下流因子に伝わっていくかに関する知見は少ない。

本研究ではタバコ植物の防御応答に働 MAPK の一種、WIPK (Wound induced protein kinase) の下流因子の探索と特徴づけをおこなった。Yeast two hybrid 法により WIPK と相互作用する因子として単離された NtWIF は、WIPK によりリン酸化され、それにより転写活性化能が上昇する転写因子であることを明らかにした。特に、N-末端に存在する Thr-Pro がリン酸化の標的配列であることも示した。次に、NtWIF の組み換え体を作製し、ストレスによる応答を比較した。過酸化水素の発生量を調整することにより、病原菌による被害を局所的に抑えることを明らかにした。さらに、標的遺伝子を探索するために、マイクロアレイ選抜をおこない、PR-Q などの遺伝子を得た。プロモーターを用い、活性を調べた結果、PR-Q は NtWIF の直接下流遺伝子であることが分った。形質転換植物体では、種子胚や胚乳の未発達による発芽抑制や根の発達障害が観察され、NtWIF は防御応答だけではなく、植物の生長発達にも大切な因子であることを示した。これらの結果は、WIPK の下流因子として NtWIF が傷害応答のみならず、多様な生理機構にも関与している事を示唆する。このように、WIPK カスケードに関して新たな知見を加えたことは、おおきく評価されよう。

以上のように、本論文は MAPK カスケードの分子機構の一端を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。