

論文内容の要旨

申請者氏名 垣田 満

植物の多くは自家不和合性により自殖を回避し、種の遺伝的多様性を維持している。アブラナ科植物では、自己の花粉表層タンパク質 SP11 と雌ずい乳頭細胞膜上の受容体型キナーゼ SRK の相互作用を介して自己花粉の認識が行われている。また、自家和合性変異株の解析から、乳頭細胞内における自家不和合性の情報伝達に細胞質キナーゼ MLPK が関与することが明らかにされてきている。しかし、SRK・MLPK 両キナーゼの機能的関係や、これらキナーゼの下流で機能する情報伝達因子の実体については、未解明のままであった。そこで本論文では、MLPK の乳頭細胞内における機能解明と、和合・不和合受粉時特異的にリン酸化されるタンパク質の探索という 2 つの方向から、自家不和合性の情報伝達機構の解明を目指した。

第 1 章では、まず MLPK が転写開始点を異にする 2 種の転写産物 (*MLPKf1*, *MLPKf2*) を産生すること、両者は異なる転写調節を受けるがいずれも乳頭細胞内で発現していることを明らかにした。また、両翻訳産物は *N*-ミリスチル基および疎水性アミノ酸配列領域を介して、それぞれ異なる機構により細胞膜に局在することを明らかにした。また自家和合性変異株 *mlpk/mlpk* を用いた相補試験により、両翻訳産物共に相補活性を有することを示すと共に、いずれにおいても細胞膜局在性が自家不和合性における情報伝達機能に必須であることを明らかにした。第 2 章では、まず BiFC 法を用いて植物細胞膜上で SRK と MLPK が直接的に相互作用することを明らかにした。また *in vitro* リン酸化実験により MLPK の Ser-rich 領域が SRK の選択的基質となることを明らかにした。さらに Ser-rich 領域が MLPK 自身のキナーゼ活性を負に制御していることを示すと共に、Ser-rich 欠失型 MLPK を乳頭細胞内で発現させると常時活性化型として機能し、和合性の花粉の吸水・発芽も阻害することを示した。さらに SRK を欠く乳頭細胞中では、Ser-rich 欠失型 MLPK は不和合性反応を誘導しないことを示し、活性型 MLPK の情報伝達の下流に SRK の存在が必須であることを明らかにした。以上の結果を踏まえ申請者は、MLPK が SRK の co-receptor として機能し、SP11 の受容の際に SRK と MLPK が相互に活性化し合うことで下流に情報を伝達するという分子モデルを提唱した。さらに第 3 章では、SRK/MLPK の下流因子の同定を目的として研究を展開した。二次元電気泳動装置を用いたプロテオーム解析を行い、和合受粉時と不和合受粉時において異なるリン酸化調節を受ける柱頭タンパク質を探索し、inorganic pyrophosphatase (IPP) を同定した。以上の結果は、これまでほとんど解明されていなかった、アブラナ科植物の自家不和合情報伝達機構について、新たな知見を与えるものである。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 垣田 満

アブラナ科植物の自家不和合性における自己・非自己の花粉の識別反応が、SP11-SRK間のいわゆるリガンド-受容体間相互作用を介して行われていることが明らかとなつて以来、自家不和合性研究の焦点は SRK 下流の情報伝達系の解明にあった。また、シロイヌナズナのゲノム解析より、600 以上の受容体型キナーゼ (RLK) の存在が示唆されると共に、その内の約 150 が MLPK と同じく明確な細胞外領域を持たない受容体様細胞質キナーゼ (RLCK) に分類されることが示唆されてきた。しかし、植物の RLK の下流の情報伝達系の解明はきわめて遅れており、特に RLCK の機能に関する知見は皆無に等しい状態であった。

申請者は、精緻な分子生物学的・生化学的実験を通じ、MLPK の特徴的な転写調節様式、細胞膜局在様式とその生理学的意義、MLPK と SRK との直接的相互作用、MLPK の活性調節機構等に関して多くの知見を明らかにした。そして、これらの結果を基に、MLPK が受容体型キナーゼ SRK の co-receptor として機能し、SP11 の受容に際して相互に活性化し合うことで下流に情報を伝えるという独自の分子モデルを提唱した。RLCK 類の一員である MLPK が、RLK 類の一員である SRK の co-receptor として機能している可能性を明らかにしたことは、自家不和合性機構解明のみならず植物の他の RLK を介した情報伝達機構解明にも広く貢献するものと期待される。また、申請者は、プロテオミクスの手法を用いて SRK/MLPK 下流因子の探索を行い、柱頭内の inorganic pyrophosphatase (IPP) が和合および不和合受粉時に異なるリン酸化調節を受けていることを明らかにした。IPP はこれまで、ケシ科植物の花粉内における自家不和合性の情報伝達に関与することが示唆されてきており、自家不和合性の進化を考える上で重要な手掛かりを与えるものと期待される。

以上のように、本論文はアブラナ科植物の自家不和合性におけるリン酸化を介した情報伝達機構に関して多くの新知見を提供するもので、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。