

| | |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名 | MOHAMMAD ABDUS SALAM |
| 授与した学位 | 博士 |
| 専攻分野の名称 | 学術 |
| 学位授与番号 | 博甲第4643号 |
| 学位授与の日付 | 平成24年 9月27日 |
| 学位授与の要件 | 自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当) |
| 学位論文の題目 | Functions of MAP kinases in methyl jasmonate-, salicylic acid-, yeast elicitor-, and chitosan-induced stomatal closure in Arabidopsis (ジャスモン酸メチル, サリチル酸, 酵母エリシター, キトサン誘導気孔閉口における MAP キナーゼの機能) |
| 論文審査委員 | 教授 村田 芳行 准教授 中村 宜督 教授 木村 吉伸 |

学位論文内容の要旨

Methyl jasmonate (MeJA) and abscisic acid (ABA) induce reactive oxygen species (ROS) production, cytosolic alkalization, elevation of cytosolic free-calcium concentrations ($[Ca^{2+}]_{cyt}$), and activation of S-type anion channels in guard cells. Salicylic acid (SA) also induces stomatal closure accompanied by peroxidase-mediated extracellular ROS production and intracellular ROS accumulation but not by $[Ca^{2+}]_{cyt}$ oscillation, while yeast elicitor (YEL) and chitosan (CHT) induce stomatal closure accompanied by peroxidase-mediated extracellular ROS production, intracellular ROS accumulation, and $[Ca^{2+}]_{cyt}$ oscillation. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs), MPK9 and MPK12, redundantly function as positive regulators downstream of ROS production and $[Ca^{2+}]_{cyt}$ oscillation in ABA signaling pathway. However, it remains to be clarified whether MPK9 and MPK12 function in MeJA, SA, YEL, and CHT signaling in guard cells.

I investigated MeJA-, SA-, YEL-, and CHT-induced stomatal closure using Arabidopsis wild type, ecotype Columbia-erecta (Col-er), *mpk9*, *mpk12*, *mpk9 mpk12* and the MAPK kinase (MAPKK) inhibitors, PD98059 and U0126. Production of intracellular ROS, extracellular ROS, and alkalization were measured using 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate ($H_2DCF-DA$), 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate (DAB), nitro blue tetrazolium (NBT), and 2',7'-bis-(2-carboxyethyl)-5,(6)-carboxyfluoresceinacetoxymethyl (BCECF-AM), respectively. The wild-type and *mpk9 mpk12* plants expressing yellow cameleon 3.6 were used for the measurement of guard cell $[Ca^{2+}]_{cyt}$ oscillation. S-type anion channel currents were measured using a whole-cell patch-clamp technique.

MeJA-, SA-, and CHT-induced stomatal closure in wild type were inhibited by PD98059 and were impaired in *mpk9 mpk12* but not in *mpk9* or *mpk12*. MeJA, SA, YEL, and CHT induced ROS production and cytosolic alkalization in all mutants and wild type. MeJA, YEL, and CHT induced $[Ca^{2+}]_{cyt}$ oscillation in wild type and *mpk9 mpk12*. MeJA induced activation of S-type anion channel in wild type but not in *mpk9 mpk12*. SA did not induce $[Ca^{2+}]_{cyt}$ oscillation in either wild type or *mpk9 mpk12*. YEL-induced stomatal closure in wild type was inhibited by PD98059 and U0126 and was impaired in *mpk9 mpk12* but not in *mpk9* or *mpk12*. YEL inhibited light-induced stomatal opening in wild type but not in *mpk9 mpk12*. Inhibition of light-induced stomatal opening by YEL was inhibited by PD98059 and U0126 in wild type.

In conclusion, MPK9 and MPK12 redundantly function downstream of ROS production and cytosolic alkalization in MeJA, SA, YEL, and CHT signaling in Arabidopsis guard cells.

論文審査結果の要旨

本論文は、陸上植物にとって重要な気孔閉口の機構における MAP キナーゼの関与を明らかにしようとしたものである。

ジャスモン酸メチルが誘導する気孔閉口において、孔辺細胞に発現する MAP キナーゼ (MPK9、MPK12) がジャスモン酸メチルシグナル伝達経路の活性酸素種産生や細胞内カルシウム変動、細胞内アルカリ化の下流で機能していることを明らかにした。また、MAP キナーゼキナーゼの阻害剤によって、ジャスモン酸メチル誘導気孔閉口が阻害されたことより、ジャスモン酸メチル信号伝達経路に MAP キナーゼカスケードが関与していることを明らかにした。

傷害や菌感染に深く関与するサリチル酸、酵母エリシター、キトサンが誘導する気孔閉口においても、その信号伝達経路において MPK9 と MPK12 が、活性酸素種産生や細胞内カルシウム変動、細胞内アルカリ化の下流で機能していることを明らかにした。

以上の結果から、ジャスモン酸メチル、サリチル酸、酵母エリシター、キトサンが誘導する気孔閉口には、MAP キナーゼ (MPK9 と MPK12) が信号伝達因子として関与していることを明らかにした。

本研究内容は、学術的な価値のみならず、気孔運動に着目した生産制御のための技術の基礎となるものである。従って、本審査委員会は本論文が博士 (学術) の学位論文に値すると判断した。