

Studies on the structure and function of the MAP kinase family in *Arabidopsis thaliana*

| | |
|------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 著者 | Mizoguchi Tsuyoshi |
| 内容記述 | Thesis (Ph.D. in Science)--University of Tsukuba, (A), no. 1328, 1995.3.23 |
| 発行年 | 1995 |
| URL | http://hdl.handle.net/2241/5236 |

| | |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名(本籍) | みぞ ぐち つよし 溝 口 剛 (東京都) |
| 学位の種類 | 博士(理学) |
| 学位記番号 | 博甲第1,328号 |
| 学位授与年月日 | 平成7年3月23日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第1項該当 |
| 審査研究科 | 生物科学研究科 |
| 学位論文題目 | Studies on the structure and function of the MAP kinase family in <i>Arabidopsis thaliana</i> (高等植物シロイヌナズナにおける MAP キナーゼファミリーの遺伝子構造と機能に関する解析) |
| 主査 | 筑波大学教授 理学博士 藤 伊 正 |
| 副査 | 筑波大学教授 理学博士 平 林 民 雄 |
| 副査 | 筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌 |
| 副査 | 筑波大学教授 理学博士 鎌 田 博 |
| 副査 | 筑波大学客員教授 理学博士 篠 崎 一 雄 |

論 文 の 要 旨

本論文では、高等植物シロイヌナズナから、タンパク質のリン酸化を介した細胞内情報伝達に関与するプロテインキナーゼ、特に MAP キナーゼ遺伝子を多数単離し、その構造と機能を解明する研究を行っている。まず始めに、動物や酵母等のプロテインキナーゼ遺伝子に共通して存在する塩基配列を合成し、この塩基配列をプライマーとして用いたポリメラーゼチェーンリアクション(PCR)法によって、シロイヌナズナのさまざまなプロテインキナーゼ遺伝子断片を単離した。次に、この遺伝子断片をもとに、さまざまな組織から構築した cDNA ライブラリーを用い、各々のプロテインキナーゼ遺伝子に対応する全長の cDNA を単離した。このようにして得られた多数のプロテインキナーゼ遺伝子のうち、その塩基配列から MAP キナーゼと予想されるものについて、その遺伝子を大腸菌に導入して転写翻訳産物を大量に調節し、この遺伝子産物について、試験管内でのリン酸化活性あるいはゲル内リン酸化反応等を調べ、この遺伝子産物が実際にプロテインキナーゼ活性を持つことおよび MAP キナーゼとして機能することを証明した。さらに、本研究で9種類の MAP キナーゼ遺伝子が単離されたことから、シロイヌナズナでは、動物とは異なり、MAP キナーゼ遺伝子が大きなファミリーとして存在し、多様な機能を果たしている可能性を示した。

一方、動物や酵母においては、MAP キナーゼを活性化する別なプロテインキナーゼ (MAP キナーゼキナーゼ; MAPKK) やこの MAPKK を活性化するさらに上流のプロテインキナーゼ (MAP キナー

ゼキナーゼキナーゼ; MAPKKK) が存在し, このようなプロテインキナーゼがプロテインキナーゼカスケードを構成することで細胞内情報伝達を行っていることが知られていることから, シロイヌナズナにも同様なプロテインキナーゼカスケードが存在すると考え, PCR 法によってこのような遺伝子をクローン化することを試み, シロイヌナズナの MARKK および MARKKK, さらには, MAP キナーゼの下流側の遺伝子についてもクローン化に成功し, シロイヌナズナのような高等植物においても, 動物や酵母と類似のプロテインキナーゼカスケードが存在することを明らかにした。

一方, 本研究で得られた多数の MAP キナーゼ遺伝子やプロテインキナーゼカスケードを構成している各々のプロテインキナーゼ遺伝子の発現を引き起こす環境因子や植物ホルモンの種類を明らかにするため, 植物個体全体を低温, 高温, 乾燥, 高濃度食塩, オーキシシン, アブシジン酸等で処理し, その時にこのようなプロテインキナーゼ遺伝子がどのように発現するかをノーザン法で詳細に解析した。その結果, MAP キナーゼ遺伝子は, その種類によって発現に違いが見られ, 特に発現の時間的タイミングが異なることを示した。また, MAP キナーゼ遺伝子の一つである ATMPK 3 は, このような処理によって5分以内というきわめて短時間のうちに発現が誘導されることも明らかにした。さらに, MAP キナーゼカスケードを構成する各々のプロテインキナーゼ遺伝子も, ATMPK 3 と同様に, このようなさまざまな処理によって5分以内に発現が誘導されることを明らかにした。このような結果から, 高等植物であるシロイヌナズナにおいては, 動物や酵母とは全く異なり, 細胞外のさまざまな環境因子によってプロテインキナーゼカスケードを構成する多くのプロテインキナーゼ遺伝子が短時間のうちに新たに発現することで情報伝達の全体を活性化させている可能性を示した。

審 査 の 要 旨

植物細胞の機能調節にきわめて重要な役割を果たすと考えられる MAP キナーゼを始めとするさまざまなプロテインキナーゼの遺伝子を世界に先駆けて単離し, その特徴的な発現特性を明らかにし, さらにその機能解明をも試みた本論文は, 高等植物における細胞内情報伝達の分子機構を解明するためのきわめて重要な基礎を築いた点で世界的にも高く評価されるものである。

よって, 著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。