

氏 名	三俣 好令		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第	6 6 5 3	号
学位授与の日付	2 0 2 2 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	The mechanism of malate-induced stomatal closure in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナにおけるリンゴ酸誘導気孔閉口のメカニズム)		
論文審査委員	教授 清田洋正	教授 村田芳行	教授 中村宜督 教授 木村吉伸
学位論文内容の要旨			
<p>Introduction</p> <p>Plants adapt to detrimental conditions by adjusting the aperture of stomatal pores, which are formed by pairs of guard cells in the epidermis of leaves, in response to changes in environmental factors such as water potential, CO₂ concentration, and light intensity. Malate is considered as an extracellular chemical signal of stomatal closure. However, the molecular mechanism of malate-induced stomatal closure is not fully elucidated.</p> <p>Results part1</p> <p>A treatment with malate induced stomatal closure in <i>Arabidopsis thaliana</i> wild-type plants but not in the mutants deficient in a slow (S-type) anion channel gene <i>SLAC1</i>. Extracellular application of malate increased S-type anion currents in guard-cell protoplasts of wild-type plants but not in guard-cell protoplasts of the <i>slac1</i> mutant. Extracellular application of malate increased SLAC1-mediated S-type anion currents when SLAC1 was co-expressed with the protein kinases whereas the malate application did not increase the S-type currents when SLAC1 was expressed alone in a heterologous expression system using <i>Xenopus</i> oocytes. Extracellular rather than intracellular application of malate increased the S-type anion currents of constitutively active mutants of SLAC1, which have kinase-independent activities.</p> <p>Results part2</p> <p>Malate-induced stomatal closure was impaired by the inhibitors of protein kinases. The malate-induced stomatal closure was impaired by the disruption of a leucine-rich repeat receptor-like kinase GHR1. The treatment with malate induced reactive oxygen species (ROS) production and the malate-induced stomatal closure was impaired by the inhibitor of peroxidases. The malate-induced stomatal closure was inhibited by calcium ion (Ca²⁺) chelators or Ca²⁺ channel blockers. The treatment with malate transiently increased cytosolic Ca²⁺ concentration in the wild-type guard cells.</p> <p>Conclusion</p> <p>Our results revealed that extracellular malate activates SLAC and that malate induces stomatal closure <i>via</i> a GHR1- and ROS-dependent pathway that stimulates Ca²⁺ signaling in guard cells. These results indicates that malate functions as a signaling molecule in the stomatal movement in <i>Arabidopsis thaliana</i>.</p>			

論文審査結果の要旨

陸上植物の表皮に存在する気孔は、水の蒸散や二酸化炭素の取込みを媒介する重要な小孔である。特に、種々のストレスによって誘導される気孔閉口は、孔辺細胞内の信号伝達経路によって厳密に制御されている。植物の本論文は、リンゴ酸誘導気孔閉口に着目し、その信号伝達経路とリンゴ酸によるアニオンチャネルの活性化の機構について明らかにしようとしたものである。

シロイヌナズナを材料として、また、イオンチャネル活性測定にはアフリカツメガエル卵母細胞を用いた異種発現系を用いて、リンゴ酸誘導気孔閉口における陰イオンチャネルの関与について、また、リンゴ酸誘導気孔閉口のシグナル伝達経路について解析を行った。

細胞外リンゴ酸は、リン酸化状態依存的にSLAC1を活性化し、気孔閉口を誘導することを明らかにした。また、リンゴ酸はペルオキシダーゼが触媒するROS産生を促進し、GHR1依存的にCa²⁺チャネルを活性化させ、細胞内Ca²⁺シグナル伝達を介してSLAC1を活性化す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植物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（農学）の学位論文に値すると判断した。