

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	カン ユウヘイ HAN Yiping
学位授与の要件	学位規則第4条第①2項該当		
論文題目			
Modulation of Stress-Responsive Rapid Production of the Phytohormone Abscisic Acid <i>via</i> Endoplasmic Reticulum Dynamics (ストレスに応答したアブシシン酸の迅速生成の小胞体ダイナミクスを介した調節に関する研究)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	坂本 敦	
審査委員	教 授	井出 博	
審査委員	教 授	山本 卓	
審査委員	教 授	太田 啓之 (東京工業大学生命理工学院)	
審査委員	准教授	島田 裕士	
〔論文審査の要旨〕			
<p>固着生活を営む植物は環境変化を機敏に感知し、これに適応するための様々な調節機構を備えている。このような環境適応機構は主として植物ホルモンにより制御されているが、その作用発現の端緒となるのは、外的・内的刺激に応答した内生量の増大である。このため、植物ホルモンの生成機構は、その受容・情報伝達機構と並んで植物科学の重要な解明課題である。アブシシン酸 (ABA) は、種子休眠や気孔閉鎖を調節する植物ホルモンとして古くから知られているが、乾燥や塩分、低温などのストレスに対する適応機構の誘導にも極めて重要な役割を担い、ストレスホルモンの異名を持つ。本論文は、ストレスに曝された植物で迅速に活性化される ABA 生成の機構解明を企図したものである。</p> <p>ストレスに誘導される ABA の生成には二つの生化学経路がある。即ち、カロテノイドから多段階の酵素反応を経る新規合成経路と、生理的に不活性な ABA 配糖体から一段階の加水分解により ABA を遊離する脱配糖化経路である。ABA の総量を規定する新規合成に対し、脱配糖化は変動環境に対して迅速な ABA 生成を担うと考えられているが、これまでにその確証は得られていない。また、脱配糖化反応を担う β-グルコシダーゼ (BGLU) は、シロイヌナズナ葉細胞では小胞体や液胞に局在し、ストレスに応答してオルガネラ特異的な機構により活性化されると考えられているが、その詳細は不明である。これらの点を明らかにするため、本論文では、シロイヌナズナの胞体局在型酵素 (BGLU18) を対象として、その活性化における小胞体ダイナミクスの関与や、ABA の迅速生成過程における実効的寄与が調査された。</p> <p>第1章では、断片的な報告しかなく知られていなかった BGLU18 の組織分布・細胞内局在を明らかにしている。即ち、葉器官において BGLU18 は葉身よりも葉柄に高含量で存在し、細胞内では小胞体よりも、寧ろそれから派生する小胞体ボディに高度に蓄積していた。小胞体ボディはアブラナ科に固有なタンパク質集積オルガネラで、病原菌感染や昆虫食害などの生物ストレスへの防御に関与することが報告されている。シロイヌナズナでは、小胞体</p>			

ボディは子葉や根に分布するとされていたが、本章で葉にも恒常的に存在することが新たに見出された。以上の結果から、BGLU18 が触媒する脱配糖化による ABA の生成や、乾燥などの非生物ストレスに対する適応において、小胞体ボディの関与が示唆された。

第 2 章では前章の示唆を受けて、非生物ストレスに応答した小胞体ボディの動態変化を明らかにし、この細胞応答現象と BGLU18 の活性化との相関を報告している。即ち、葉柄細胞の小胞体ボディは乾燥、高浸透圧、高塩濃度などのストレス要因により増加し、最も迅速（30 分以内）であった乾燥への経時応答特性から、その動態変化は量的および形態的变化を伴う可逆的なストレス生理応答であることを示した。さらに、恒常的に BGLU18 を活性化する *aln* 変異と BGLU18 欠失変異 (*bglu18*) を組み合わせた遺伝生理学的解析から、小胞体ボディの動態変化と BGLU18 の活性化には正の相関があることを示した。しかし、小胞体ボディは貯蔵オルガネラであるため、その内部に集積したタンパク質は生理的には不活性である。そこで申請者は、ストレスに応答した小胞体ボディの動態変化によって BGLU18 が小胞体に移行し、そこで活性化され ABA 生成を触媒すると考えた。

第 3 章の前半ではこの仮説の検証実験を行い、以下の結果を提示している。(1) 30 分間の乾燥処理により、葉柄では小胞体ボディに対して小胞体における BGLU18 の存在比が増大するとともに、脱配糖化活性や ABA 濃度が上昇した。(2) 小胞体ボディを欠損する *nai2* 変異株では、野生株と比較して通常条件でも小胞体における BGLU18 の存在比が高まり、同時にその脱配糖化活性も恒常的に上昇していた。(3) 乾燥に反応して *nai2* 変異株は野生株よりも過剰に ABA を蓄積したが、本変異株に *bglu18* 変異を導入した二重変異株では脱配糖化活性や ABA 濃度の増大は消失した。以上の結果は、申請者が提示した仮説とよく適合し、その妥当性を支持するものといえる。本章の後半では、ストレスに反応した ABA の迅速生成過程における脱配糖化機構の実効的寄与を検証し、BGLU18 による ABA 生成は新規合成を先行することを報告している。その根拠として、(1) 乾燥処理 30 分後には野生株で観察される ABA の上昇が *bglu18* 変異株では 60 分後まで遅延すること、(2) ABA の新規合成が大きく損なわれた *aba2* 変異株ではこのような遅延は生じず、30 分後には小規模ながら脱配糖化に由来すると考えられる ABA の増大応答が観察されることの二点を挙げている。新規合成経路を構成する酵素群の遺伝子発現は、ABA の蓄積により正のフィードバック制御を受けることから、申請者は、脱配糖化による ABA の迅速生成はストレス適応の誘導のみならず、新規合成の活性化にも貢献する可能性を指摘している。

本研究は、ストレス遭遇時に観察される小胞体系のダイナミックな応答に着眼し、迅速な ABA 生成機構の活性化にはオルガネラの動態変化が密接に関わるという、当該分野の研究に全く新しい視点を提供した。その内容は、不断の環境変動に対峙する植物の生存成長戦略を理解するうえで重要な新知見を包含するのみならず、オルガネラ・ダイナミクスによる植物ホルモンの代謝制御という新しい概念を提起するものであり、独創的で学術的意義の高いものと評価できる。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

Han, Y., Watanabe, S., Shimada, H. and Sakamoto, A. (2019) Dynamics of the leaf endoplasmic reticulum modulate β -glucosidase-mediated stress-activated ABA production from its glucosyl ester. *Journal of Experimental Botany*, in press (DOI: 10.1093/jxb/erz528).