

論文内容の要旨

申請者氏名 高原 健太郎

固着生活を営む植物は、様々な環境ストレスに対しその代謝や形態を劇的に変化させ、悪環境への適応を図る。これら一連の大規模な代謝的変動においては、個々の代謝活動が相互に関連し、植物体全体のレベルで包括的に制御される必要がある。しかしながら植物の環境ストレス下における代謝の全体像と、それらの制御を担う分子機構については、知見が乏しい。

野生スイカにおけるシトルリン代謝は、環境ストレス下の植物における代謝適応を理解する上で、興味深い一例を示している。シトルリンは、活性酸素ヒドロキシラジカル消去能に優れた新規適合溶質であり、乾燥強光ストレスに伴い野生スイカの葉組織に高蓄積する。シトルリンは一分子中に窒素原子を3つ含む高窒素化合物であり、乾燥強光時の葉の窒素含量の約2割を占めると見積もられる。乾燥強光時の野生スイカは、土壌含水量の低下により根から窒素栄養を吸収できないため、シトルリンの生合成には細胞内で何らかの形で既に使われている窒素化合物を異化し、再分配する必要があると考えられる。そこで本研究では、乾燥強光下の野生スイカにおけるシトルリン蓄積の制御機構を解明することを目的とした。

まずシトルリン蓄積を促進する鍵酵素を明らかにするために、それぞれの酵素について、酵素共役反応を利用し、吸光度変化をモニターすることで活性を見積もることができる迅速・簡便な活性測定系を考案・確立した。この活性測定系により同一抽出液を用いて、シトルリン代謝経路の全ての酵素を短時間に解析することが可能になった。そこで本測定系を用いて、乾燥ストレス前と乾燥3日目の野生スイカの葉粗抽出液における酵素活性を比較した。その結果、経路の第1段階を担う *N*-acetylglutamate synthase (AGS)、第2段階を担う *N*-acetylglutamate kinase (AGK)、およびシトルリンの基質の1つであるカルバモイルリン酸を生合成する Carbamoyl phosphate synthetase (CPS) の3酵素が、乾燥によりそれぞれ約7倍、7倍、3倍に活性が増加していた。対してシトルリンの異化酵素である Argininosuccinate synthase (ASS) の活性が5分の1に低下していた。その他の代謝酵素活性は、乾燥前後で大きな変化が見られなかった。これらのことからシトルリン蓄積は、経路の初発段階を担う3酵素の活性増加により経路への流量が増大すると共に、シトルリン異化酵素の活性が低下しシトルリン分解が抑制されることにより達成されることが示された。次に野生スイカの乾燥強光に伴う P_{II} protein 量を解析したところ、シトルリンの蓄積と相関して発現量が増加していた。さらに野生スイカ AGK は、乾燥強光に伴い活性が増加するだけでなく、アルギニンに対するフィードバック阻害が緩和されることを見出した。これらの結果から、野生スイカシトルリン代謝は、他の炭素・窒素代謝系と協調して、ストレス時の限りある窒素源を効率よく利用できるよう厳密に制御されていることが示唆される。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 高原 健太郎

申請者の高原健太郎君は、固着生活を営む植物に於いて不可避である環境ストレス応答に興味をもち、それらの中でも特に代謝的な適応機構について精緻かつ重要な研究を展開し、質の高い博士学位論文を作成した。申請者は、アフリカ・カラハリ砂漠に自生する野生スイカが高蓄積する活性酸素消去能に優れる適合溶質シトルリンの代謝機構をモデル系として、光合成の抑制や余剰光エネルギー散逸の亢進などエネルギー代謝が大きく変動する状況下で、細胞内の炭素・窒素化合物の異化および他器官への再分配どのようにして行なわれ、またそれらがどのようにして制御されているのかについて、生化学、分子生物学的な先端技法を駆使して解明した。特に、これまで全くの未知であったシトルリン代謝系構成酵素の活性を全て測定し、代謝系の制御の全体像を明らかにしたことや、これら代謝系制御のマスター因子 PII の関与についても解明するなど、申請者の学位論文内容は独創的かつ精力的なものである。申請者は、乾燥強光ストレス下の野生スイカの葉において、シトルリン生合成経路の初発および第 2 段階を触媒する N-acetylglutamate synthase, N-acetylglutamate kinase、ならびにカルバモイルリン酸生合成経路の Carbamoyl phosphate synthetase の 3 酵素が、活性化を受けること、逆にシトルリン下流の argininosuccinate synthase が不活性化を受けることを世界で初めて明らかにした。更に申請者の学位論文は、適合溶質シトルリンの窒素成分が、光合成の主要因子である Rubisco の分解により供給されていることや、野生スイカにおいてシトルリン生合成を構成する諸酵素が耐熱性、フィードバック阻害非感受性など、シトルリン高蓄積に有利な生化学的特性を数多く具備していることを解明した。このように申請者の研究成果は、植物の環境応答を考察する上で重要な知見をもたらすものである。

これらの研究成果については、その成果の一部が既に学術誌 FEBS Journal(2005) 272: 5353-5364 に受理され発表されているほか、他 2 報の学術論文の投稿準備が進められている。

以上のように、本論文は精緻かつ重要な知見に満ちたもので、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。