

論文内容の要旨

申請者氏名 逸 見 健 司

論文審査委員会

＜背景および目的＞

外界シグナルの核への伝達や受容したシグナルに対する応答手段のひとつに細胞内のレドックス状態を変化させる機構が生物界に広く存在する。植物細胞では（１）植物病原菌との相互作用でみられる過敏感細胞死や（２）形態形成の過程において活性酸素の生成やグルタチオンの関与を暗示させる現象が見つかっているが、活性酸素の生成調節機構およびグルタチオンの役割についてはほとんど知られていない。そこで本研究ではこれらの過程においてレドックスを制御する因子が担う役割を明らかにすることを目的とする。

＜結果および考察＞

（１）低分子量 G タンパク質 OsRac によるイネの細胞死の誘導

貪食細胞の NADPH オキシダーゼ複合体では低分子量 G タンパク質 Rac が活性化調節因子として機能することが知られているが、これと高い相同性を示すイネ OsRac が過敏感細胞死を誘導する活性酸素の生成を調節するか解析した。野生型および細胞死変異系統である *sl* 変異体に活性型 OsRac1 遺伝子を導入した培養細胞では NADPH オキシダーゼを介した系による H_2O_2 の恒常的な生成が認められた。*sl* 変異体に活性型遺伝子を導入した形質転換培養細胞において TUNEL 法および電子顕微鏡観察により、動物細胞のアポトーシスでみられる現象が認められた。活性型遺伝子を導入した形質転換植物では疑似病斑の形成誘導が観察された。これらの結果から、OsRac は NADPH オキシダーゼを介した系による活性酸素の生成および細胞死誘導の両方を制御する因子であることが示された。

（２）レドックス制御による管状要素分化および根の形成

ヒヤクニチソウの管状要素分化系を用いて、分化過程に活性酸素およびその代謝とカップルして細胞内のレドックス状態を変化させうるグルタチオンが関与しているか調べた。活性酸素のスキャベンジャーまたは NADPH オキシダーゼ阻害剤は分化抑制効果を示したことから、活性酸素は分化を正に制御していることが示唆された。外から与えたグルタチオンまたはグルタチオン合成阻害剤は与えたタイミングによって分化に対する効果に違いがみられたことから、グルタチオンもこの過程を調節していることが示唆された。GSSG を加える分化促進条件においてはグルタチオンレダクターゼ（GR）遺伝子のフィードフォワードなダウンレギュレーションが認められたことから、酸化状態が誘導される必要性が示唆された。GR 遺伝子を高発現する形質転換シロイヌナズナでは非形質転換体に比べて根の伸長速度が抑制されたが、これは根のメリステム領域の細胞数減少によるものであることが示された。野生型植物の根の伸長は GSSG の濃度によって促進や抑制を受けたが、細胞質型 GR 遺伝子の T-DNA 挿入変異体では GSSG に対する応答を示さなかった。この変異体の根が野生型より短かったことを考えあわせると、根の形成は GR 活性を介したグルタチオンによるレドックス状態の変動によって調節されていると示唆された。

以上の結果から細胞死や細胞分化、根の形成といった多岐にわたる植物の生長生理にレドックス制御の介在が示された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 逸 見 健 司

論文審査委員会

本研究は活性酸素およびグルタチオンによるレドックス調節が植物の生長生理にとって重要な調節機構となっていることを示すものであった。

活性酸素はこれまで細胞にとってはストレス因子としての認識が高かったが、本研究においては植物が病原菌感染に対して抵抗性を獲得するための積極的な細胞死の過程や管状要素に分化するための過程において必要な因子としての認識を提示するものである。植物細胞においては活性酸素の生成調節機構についても未知であったが、OsRac がその活性化または不活性化の状態に依存した制御を行なっていること、および細胞死をも同時に制御している点を見出した点は新規性が高い。

グルタチオンは単純な構造で細胞内に mM オーダーという高い含量で存在することから、その特異性はほとんど注目されてこなかった。本研究ではグルタチオンによるレドックス状態の変動が管状要素の分化や根の伸長といった特定の現象に関与することが見出されたことから、この制御の下流には SH 基交換反応などによって機能変換されるある特異性をもった分子が存在することを示唆するものである。また、グルタチオンは抗酸化物質としての認識が高かったが、本研究ではグルタチオンが直接、分化や形態形成を調節するという知見が得られている。これは動物細胞においてもない新規な知見である。

活性酸素およびグルタチオンはいずれも好気性生物に普遍的に存在することから、これらによるレドックス制御も高度に保存されていると予想される。細胞内は通常、還元的な状態に保たれているため、一過的に酸化状態が誘導されると、これがシグナルとなる。細胞内へシグナルを迅速に伝達する手段として構造が単純で反応特異性が低いレドックス制御因子が機能しているとすれば、これまでタンパク質間の特異性などだけでは説明し難かった現象も細胞内のレドックス状態を考慮することで明らかとなる可能性を含んでいると考えられる。

以上のように、本論文は植物の生長生理を理解する上でレドックス制御という新しい切り口をもたらし、動植物を問わず制御機構未知の現象を解明するための端緒となるもので、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。