

氏名(本籍)	浦野 薫 (群馬県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第 3332 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Molecular Analysis of Polyamine Biosynthesis Involved in Environmental Stress in <i>Arabidopsis thaliana</i> (環境ストレス下のシロイヌナズナにおけるポリアミンの機能解析)
主査	筑波大学客員教授 理学博士 篠崎 一雄
副査	筑波大学教授 理学博士 鎌田 博
副査	筑波大学教授 理学博士 林 純一
副査	筑波大学助教授 理学博士 佐藤 忍

論文の内容の要旨

ポリアミンは微生物から動植物に至るまで広く生体内に存在する生理活性物質である。ポリアミンは古くから、様々な細胞内のプロセスに関与していると考えられてきた。本研究では環境ストレス応答における植物系でのポリアミンの機能について解析を行った。植物中に存在する主なポリアミンは、プトレスシン、スベルミジン、スベルミンの3種である。これまでの研究により、ポリアミンを外的に処理することにより、ポリアミンが乾燥、低温、塩などの環境ストレス耐性の獲得に関与することが示唆されてきた。しかしながら、その詳細な役割については不明な点が多い。ポリアミンとストレス応答や耐性の関係を明確に証明するためには、実際の植物体内でポリアミン量を減らした時、ストレス応答に対してどのような影響があるか調べる必要がある。本研究では、高等植物のモデル実験植物であるシロイヌナズナを用いて、ポリアミンの直接的なストレス応答に関する役割を明らかにすることを目的として、生理学的、分子生物学的解析を行った。

シロイヌナズナの8個のポリアミン合成関連遺伝子のストレス下での発現解析を行った結果、ストレス誘導性、恒常性、抑制性の3つの発現パターンに分かれることを明らかにした。さらに3種のポリアミンの内、プトレスシンが環境ストレスに応答して増加することを示した。律速酵素の arginine decarboxylase (ADC) をコードする *AtADC2* 遺伝子が重要であることが、その発現がストレスにより誘導されることから乾燥や塩などのストレス時のプトレスシンの増加には *AtADC2* が関与することが予想された。トランスポゾンタグラインより単離したシロイヌナズナ *AtADC2* 遺伝子破壊変異体 (*adc2-1*) のポリアミンの内生量の解析を行ったところ、*adc2-1* 変異体はコントロール植物の約 25% のプトレスシン量しか蓄積せず、ストレス下でも増加しなかった。*adc2-1* 変異体の乾燥ストレス下での蒸散量の変化を調べた結果、*adc2-1* 変異体はコントロール植物に比べ、蒸散量が多いことが観察された。気孔の開鎖度合について調べた結果、*adc2-1* 変異体はコントロール植物に比べ、気孔の開度が大きいことが明らかになった。以上の結果から、気孔の開鎖に関わる乾燥ストレス応答に、ポリアミンのひとつであるプトレスシンが重要な役割を果たすことを示した。さらに、*adc2-1* 変異体は、コントロール植物に比べ塩ストレスに対する耐性が弱いこと、さらに培地にプトレスシンを添加することで、*adc2-1* の塩ストレス障害が軽減されることから、植物の塩ストレス耐性獲

得に関しても、プトレスシンが重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。

本研究においてポリアミンの1つであるプトレスシンが、植物の乾燥、塩ストレス応答に重要な役割を果たしており、プトレスシンの乾燥や塩ストレス下での蓄積にはストレス応答性の *AtADC2* 遺伝子が鍵になる遺伝子であることを、遺伝子破壊変異体を用いて実際の植物体で初めて明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、以下の点について解析することにより、ポリアミンの1つであるプトレスシンが高等植物の乾燥・塩ストレス耐性の付与に関与することを、実際にプトレスシン量の少ない変異体を用いて初めて明らかにしたものである。

高等植物シロイヌナズナの植物体において、乾燥、塩、低温ストレスによりポリアミンの中のプトレスシンが蓄積することを明らかにした。シロイヌナズナよりポリアミン合成に関わる8個の遺伝子を単離し、それらが乾燥、塩、低温などの環境ストレス下でストレス誘導性、抑制性、恒常性の3つの発現パターンに分かれることを明らかにした。さらに、ストレスで蓄積するプトレスシンは arginine decarboxylase の遺伝子 *AtADC2* の転写による制御を受けていること、また *AtADC2* はストレス下だけでなく通常時のプトレスシン合成に関しても重要な遺伝子であることを遺伝子破壊型の *adc2-1* 変異体を解析することで初めて明らかにした。プトレスシン量が少ない *adc2-1* 変異体は乾燥ストレスに対する気孔の開閉応答が鈍いこと、塩ストレスに対する耐性が弱いことを示した。

本研究では、植物の乾燥・塩ストレス耐性獲得にポリアミンの1つであるプトレスシンが重要な役割を果たすことを、プトレスシン合成系のキー酵素の arginine decarboxylase 遺伝子が抑制された変異体植物を用いて、直接に証明した点で独創的であり、高等植物の乾燥・塩ストレス耐性の獲得に関与する生理応答機構の研究の進展に大きく貢献するものとして評価される。

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。