

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Yin Lina (殷俐娜)
審査委員	<p>主査 田中 淨 (印)</p> <p>副査 恒川 篤史 (印)</p> <p>副査 滝本 晃一 (印)</p> <p>副査 辻本 壽 (印)</p> <p>副査 柴田 均 (印)</p>
題目	<p>活性酸素と過酸化脂質由来アルデヒド消去によるアルミニウム耐性の改善 Improvement of aluminum tolerance through scavenging reactive oxygenspecies and lipid peroxide-derived aldehydes</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>Yin Lina さんの博士論文の発表内容は次のようであった。アルミニウム障害は、酸性土壌における植物の成長や生産性を制限する最大の要因である。アルミニウムイオンは酸化的障害を引き起こし、植物の成長を阻害する。この酸化的障害は活性酸素種により促進され、抗酸化能の向上により軽減される。アスコルビン酸 (AsA) およびグルタチオン (GSH) は植物の主要な抗酸化物質であり、モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ (MDAR)、デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ (DHAR)、グルタチオンレダクターゼ (GR) の作用によって再生されることが明らかにされている。しかし、アルミニウム耐性における DHAR, MDAR および GR の機能は未解明のままである。そこで本研究では、アルミニウムストレス期間中の AsA および GSH の再生における DHAR, MDAR および GR の役割を明らかにすることを目的とした。供試材料として、AtMDAR もしくは AtDHAR を過剰発現させた遺伝子組換えタバコ (それぞれ MDAR-OX 株もしくは DHAR-OX 株)、および AtGR を過剰発現させた遺伝子組換えシロイヌナズナ (GR-OE 株) を用い、対照植物であるタバコ野生株 SR-1 およびシロイヌナズナ野生株 Columbia (Col) と比較した。</p> <p>寒天培地上で 14 時間 AlCl₃ に曝したところ、DHAR-OX 株は野生株 SR-1 よりも根の成長が早かったが、MDAR-OX 株では同等であった。水耕培地で 24 時間 AlCl₃ 処理 (500 μM) したところ、根端におけるアルミニウムの分布や集積について、SR-1, DHAR-OX 株および MDAR-OX 株の間に差異は認められなかった。しかし、DHAR-OX 株は SR-1 よりも過酸化水素含量が少なく、脂質過酸化や酸化的 DNA 障害レベルが小さかった。一方、MDAR-OX 株は SR-1 と同程度の障害を示した。SR-1 と比較したところ、DHAR-OX 株はアルミニウムの有無に関わらず AsA レベルをより高く維持していたが、MDAR-OX 株はアルミニウム不在の場合のみ AsA レベルを高く保った。また、DHAR-OX 株はアルミニウムストレス下でアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) 活性を高く維持した。これらの結果より、DHAR-OX 株の高い抗酸化能およびアルミニウムストレス耐性は、AsA レベルおよび APX 活性の維持に起因していることが明らかとなった。また、アルミニウム耐性の付与には MDAR ではなく DHAR の過剰発現が関与しており、また AsA レベルを高く維持することが重要であることが示された。</p> <p>GR を過剰発現させたシロイヌナズナも、野生株 Col に比べて高いアルミニウムストレス耐性を示した。シロイヌナズナで GR を過剰発現させると、細胞中の GSH および AsA レベルが増加し、これにより抗酸化能が向上して過酸化水素の生成と脂質の過酸化が抑制され、最終的にアルミニウムストレス耐性が高まることが明らかとなった。</p>	

活性酸素の下流で生じる脂質過酸化はアルミニウム障害の共通した反応であり、これはアルミニウム濃度が高まるにつれて増加する。動物細胞における研究では、現在のところ、脂質過酸化 (LOOH) 障害の大部分はそれに由来するアルデヒドに起因すると考えられている。植物では、高温、低温、紫外線-B, 塩, 重金属およびアルミニウムによって生じる環境ストレス条件において、LOOH 由来アルデヒドのレベル (チオバルビツール酸反応性物質として測定される) と細胞障害との間に密接な関係があることが報告されている。したがって、LOOH 由来アルデヒドがアルミニウム障害と関係している可能性がある。本実験では、LOOH 由来アルデヒド、特に高求電子性の α , β -不飽和アルデヒド (2-アルケナール) がアルミニウム障害に関与しているという仮説を実証することを目的とした。Arabidopsis thaliana 2-アルケナールレダクターゼを過剰発現した遺伝子組換えタバコ (AER-OE 株), 野生株 SR-1 および空ベクター導入株 (SR-Vec) の根をアルミニウムに曝した。その結果、2つの対照株に比べ、AER-OE 株はアルミニウム処理による根の伸長の遅延の程度が小さく、アルミニウムが除去された後の再伸長も早かった。また、アルミニウム処理によって AER-OE 株の根においてもアルミニウムが蓄積し、その程度は過酸化水素に感受的な対照株と同等であったが、対照株よりもアルデヒドの蓄積量や細胞死が少なかった。SR-1 の根では、アルミニウム処理によって高活性 2-アルケナールであるアクロレイン, 4-ヒドロキシ-(E)-2-ヘキセナール, 4-ヒドロキシ-(E)-2-ノネナール, およびマロンジアルデヒドやホルムアルデヒドのようなその他のアルデヒドの量が顕著に増加した。一方、AER-OE 株の根ではこれらのアルデヒドの蓄積が有意に少なかった。4-ヒドロキシ-(E)-2-ヘキセナールおよび (E)-2-ヘキセナールに曝された根の成長阻害は、SR-1 よりも AER-OE 株のほうが小さかった。これらの結果より、活性酸素の下流で産生される LOOH 由来アルデヒドは直接に根の細胞を損傷することが明らかとなった。また、AER による損傷の抑制はアルミニウム障害に対する新たな防御機構と考えられた。

本研究の結果、タバコおよびシロイヌナズナでは、アルミニウム障害が不可逆的な酸化的障害を引き起こすことが明らかとなった。抗酸化酵素遺伝子である DHAR および GR を過剰発現させたタバコおよびシロイヌナズナではアルミニウム耐性が高まることが示された。しかし、タバコにおいて MDAR を過剰発現させたところ、アルミニウム耐性を向上させる効果は認められなかった。DHAR-過剰発現タバコおよび GR-発現シロイヌナズナは野生種に比べ、根における AsA レベルおよび APX 活性が高く、これらがアルミニウム耐性において非常に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、AER 遺伝子を過剰発現させたタバコもアルミニウム耐性が向上することが示された。AER 過剰発現タバコは野生種よりも LOOH 由来アルデヒド、特に 2-アルケナールの蓄積が少なかった。LOOH 由来アルデヒドはアルミニウム障害の要因であり、アルデヒド消去能はアルミニウム障害を軽減することが分かった。以上の結果、活性酸素および LOOH 由来アルデヒドによって生じた酸化損傷はアルミニウム障害の重要な要因であることが明らかとなった。本研究によって植物のアルミニウム障害の新たな機構が解明されるとともに、アルミニウム耐性植物の育成に対する新たな研究戦略が示された。これらは世界の酸性土壌地域の植物生産性の向上に寄与すると考えられる。これらの研究は学術的にも高レベルであり、植物科学分野ではトップクラスのジャーナルである Plant Physiology (IF: 6.1) と Planta (IF: 3.1) に掲載された。以上のことから、本学位論文は十分に博士授与の価値があると審査委員全員が認定した。