



Title	Ca2+-dependent mechano-perception in plant cells : Possible involvement of cell wall-plasma membrane adhesion
Author(s)	林, 晃之
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45634
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	林 晃之
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 19020 号
学位授与年月日	平成16年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Ca^{2+} -dependent mechano-perception in plant cells : Possible involvement of cell wall-plasma membrane adhesion (植物細胞における Ca^{2+} に依存した機械的刺激の受容メカニズム : 細胞壁-細胞膜接着の関与)
論文審査委員	(主査) 教授 寺島 一郎 (副査) 教授 小倉 明彦 助教授 前田ミネ子 助教授 高木 慎吾

論文内容の要旨

植物細胞には、接触や細胞外浸透圧の変化などの機械的刺激に応答する仕組みが備わっている。機械的刺激は細胞膜の変形をひき起こし、そのような細胞膜の変形は、動物植物を問わず、機械受容チャネルを活性化すると考えられている。酵母では、細胞膜の伸展によって活性化される Ca^{2+} チャネル(伸展活性化 Ca^{2+} チャネル)の存在が報告されている。一方、植物細胞では、機械的刺激の受容に関わる分子ならびにそれらの機能様式についてほとんど明らかにされていない。

〈パートI〉

淡水産単子葉植物オオセキショウモ (*Vallisneria gigantea*) の葉肉細胞では、アクチン繊維束を軌道とする周回型の原形質流動が観察される。私は、高張処理に伴い原形質流動が速やかに一過的に停止する現象を見つけた。この現象は、細胞外 Ca^{2+} の存在を必要とし、伸展活性化チャネルのブロッカー Gd^{3+} などの Ca^{2+} チャネルブロッカーによりほぼ完全に阻害された。

高張処理に伴う原形質流動の一過的停止を示した細胞のほとんどは、その後、細胞壁と細胞膜とが複数の接着点を残しながら分離する凹型の原形質分離を示した。これは、細胞壁と細胞膜とが強く接着していたことを示唆する。原形質分離に引き続き原形質復帰させた細胞は、直後の2度目の高張処理に対して応答せず、その後、細胞壁から細胞膜が抵抗なく分離する凸型の原形質分離を示した。これは、細胞壁と細胞膜との接着が弱かったことを示唆する。

2度目の高張処理に対する応答は原形質復帰後12時間以上かけて回復し、それと平行して、細胞は再び凹型の原形質分離を示すようになった。この応答性の回復は、 $10\text{ }\mu\text{M}$ シクロヘキシミド、 $10\text{ }\mu\text{M}$ コルジセピン、 $500\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ トリプシンによって抑制され、応答しなかった細胞の多くが凸型の原形質分離を示した。また、1%セルラーゼ前処理により、高張処理に対する応答は抑制され、応答しなかった細胞の多くが凸型の原形質分離を示した。

〈パートII〉

高張処理に伴う細胞質 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$) の変化を定量的に解析するために、アポエクオリン遺伝子を発現させ

たシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の葉を用いた。高張処理に伴って $[Ca^{2+}]_{cyt}$ は一過的に上昇した。この上昇は Gd^{3+} により完全に阻害された。一方、高張処理後の葉を低張処理すると、高張処理の場合と同様に、 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ は一過的に上昇した。この応答もまた Gd^{3+} により阻害された。

細胞が原形質分離に引き続き原形質復帰した葉では、2度目の高張処理に対する応答はみられないが、その直後の2度目の低張処理に対する応答はみられた。また、高張処理に対する応答性は約6時間で回復した。さらに、1%セルラーゼ前処理は、高張処理に対する応答を阻害したが、低張処理に対する応答には影響しなかった。

以上の結果より、高張処理および低張処理に対する応答に伸展活性化 Ca^{2+} チャネルが関与する可能性が示唆された。また、高張処理に伴う Ca^{2+} に依存した細胞応答には、トリプシン感受性の蛋白質因子やセルロースに依存した細胞壁と細胞膜との強い接着が必要である可能性が示唆された。一方、低張処理に対する応答にはそれらの仕組みは必要ではないことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

林晃之君は、いわば「植物細胞の感覚生理学」ともいるべきユニークな課題に取り組んだ。淡水産の維管束植物であるオオセキショウモの葉肉細胞を高張液に浸した時、原形質分離に先立って原形質流動の停止が起こることを見出した。次に、これが起こるのは、細胞壁と細胞膜との間に結合があつて細胞膜に張力がかかる時だけであることから、動物細胞の触覚器に似た張力受容機構が関与していると想定し、細胞壁-細胞膜接着を修飾することでこれを確認した。さらにこの応答に関与する細胞内シグナルが Ca^{2+} であろうと想定し、 Ca^{2+} センサー蛋白質の遺伝子を導入したシロイヌナズナを用いて解析を進め、伸展活性化 Ca^{2+} チャネルが存在することを証明した。技術的な困難から、オオセキショウモ葉肉細胞における伸展活性化 Ca^{2+} チャネルの存在や、細胞壁-細胞膜接着に関わる蛋白質因子について未解決な問題が残されているが、細胞レベルでの現象発見から細胞内シグナルの解析まで視野の広い研究を行ない、植物細胞における機械的刺激受容についての理解を格段に前進させたことが評価された。

博士（理学）の学位を授与するのに十分な業績を上げたと判断される。