The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Evolutionary Process of Stress Response Systems Controlled by Abscisic Acid in Photosynthetic Organisms
Author(s)	吉田, 賢司
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45662
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　吉田賢司（よしだ　けんじ）

博士の専攻分野の名称　博　士（薬　学）

学位記番号　第　19435　号

学位授与年月日　平成17年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

薬学研究科生命情報環境科学専攻

学位論文名　Evolutionary Process of Stress Response Systems Controlled by Abscisic Acid in Photosynthetic Organisms
（光合成生物におけるアブシジン酸シグナル物質とした環境ストレス応答の進化プロセスの解析）

論文審査委員　（主査）
教　授　宮本　和久

（副査）
教　授　田中　慶一　　教　授　那須　正夫　　教　授　西原　　力

論文内容の要旨

近年の地球規模の環境汚染や人口爆発などにより、発展途上国の一部で深刻化している食糧不足が世界中に広がることが懸念されている。食糧問題を解決するためには、劣悪な環境でも成長できる環境ストレス耐性植物を作成することが必要となる。これまでに、他種生物の遺伝子を導入した耐生植物の作成が試みられたが、遺伝子発現の制御が困難であることや、代謝のバランスが崩れてしまう等の理由から、環境ストレス耐性の有意な上昇は達成されていない。また、高等植物の遺伝子を導入した耐性植物の作成も試みられたが、未だ実用にたえられる優れた組み換え体は得られていない。これは、高等植物が進化の過程で獲得した環境ストレス応答機構が複雑なことから、その解明が未だ不十分であるためである。

高等植物と同じ光合成生物である原核生物のラン藻、真核生物の緑藻は、基本的な代謝が高等植物と極めて類似しており、その進化上の起源であると考えられている。したがって、これらの生物に由来する優秀なストレス応答遺伝子は、高等植物に導入した際に、遺伝子発現の制御が比較的容易で、代謝バランスを崩す可能性も低いと予想される。このことから、これらの生物における環境ストレス応答機構の解明に向けて、精力的な研究が行われている。実用にたえうる次世代の耐性植物を作成するためには、このような研究成果を高等植物などと比較して解析を行い、光合成生物における環境ストレス応答機構の多様性や進化プロセスに関する情報を得ることが必要不可欠である。しかしながら、現時点ではこのような観点に基づいた比較解析研究はほとんど行われていない。

Abscisic acid（ABA）は、高等植物における環境ストレス応答ホルモンとして知られており、環境ストレスによって生合成が誘導されることや、多様な環境ストレス応答反応を誘導することなどが遺伝子レベルで明らかにされている。この ABA をシグナル分子とした環境ストレス応答反応は、ラン藻や緑藻から高等植物へと進化していく過程で多様に機能進化してきたと予想される。したがって、ラン藻や緑藻における ABA をシグナル分子とした環境ストレス応答反応やその進化プロセスを明らかにすることによって、次世代の耐性植物を作成するための非常に有益な情報を提供できる。そこで本研究では、ABA をシグナル分子とした環境ストレス応答反応について、光合成生物間の比較解析を行った。具体的には、ラン藻と緑藻を材料として、ABA の機能とその生合成経路について解析し、得られた結果を高等植物と比較した。さらに、次世代の耐性植物の作成に必要な基礎的情報を的確に得るための手段として有用

な、比較解析の手法を提案した。

緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の増殖に与える影響および環境ストレス緩和効果について検討したところ、増殖促進効果および酸化、浸透圧、塩ストレスに対する緩和効果が認められた。光合成生物が環境ストレスに曝された場合、細胞は直接傷害を受けるとともに、二次的に引き起こされる酸化的なストレスによっても傷害を受ける。そこで、ABA による環境ストレス緩和効果は、直接傷害と二次的酸化傷害のどちらを緩和したことによるものかを明らかにするための検討を行ったところ、ABA は、抗酸化酵素 catalase および ascorbate peroxidase の遺伝子発現および活性上昇を介して、酸化ストレスに対してのみ特異的に緩和応答を誘導していた。

一方、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 の増殖に与える ABA の影響および ABA による環境ストレス緩和効果についても同様の検討を行った。また、全遺伝子の発現に与える ABA 処理の影響についても検討した。この結果、ABA は、増殖および遺伝子発現に対して全く影響を与えず、環境ストレスの緩和も全く引き起こさなかった。

高等植物において、ABA はカロチノイドから数段階の酵素反応を経て生合成される。従って、これらの株における ABA の生合成経路に関する検討を行った。この結果、*C. reinhardtii* には ABA、生合成中間体および関連酵素が全て存在していることが明らかとなった。そこで、高等植物における ABA 生合成の律速酵素と考えられている 9-*cis* epoxycarotenoid dioxygenase（NCED）に注目して詳細な検討を行った。*C. reinhardtii* の EST データベースの中から高等植物の *NCED* に類似した配列を検索し、この配列を含む mRNA の発現におよぼす浸透圧、塩および酸化ストレスの影響を解析したところ、酸化ストレスのみによって発現が誘導されていた。

これに対して、*Synechocystis* においては内在性の ABA が極微量存在していることが明らかになったものの、生合成中間体は存在しておらず、関連酵素の存在も不完全であった。また、*NCED* 類似の遺伝子を破壊しても、細胞内 ABA 含量に変化は認められなかった。これらの結果は、*Synechocystis* において ABA がカロチノイドの非酵素的分解によって生成している可能性を示唆している。カロチノイドの非酵素的分解を引き起こす環境要因として、強光などが考えられる。そこで、強光を照射した細胞に含まれるカロチノイド類を分析したところ、微量の生合成中間体が新たに生成していた。また、生合成中間体に、*in vitro* で強光照射を行ったところ、ABA の生成が確認できた。

以上の結果から、光合成生物における ABA をシグナル分子とした環境ストレス応答の進化プロセスについて考察した。

すなわち、ABA はラン藻の段階ではカロチノイドの非酵素的分解産物として存在し、環境ストレス応答反応のシグナル分子としての機能は持たないが、緑藻へ進化した段階で酸化ストレス特異的な細胞内シグナル分子として機能すべく生合成系が整い、さらに高等植物へと進化する際に多様な環境ストレスに対する応答反応を誘導するシグナル分子として、より精密な生合成制御機構が発達したと考えられる。

本研究において初めて行われた光合成生物間の詳細な比較解析は、環境ストレス応答機構の多様性や進化プロセスを解明する上で非常に有効な方法であり、今後の更なる研究の展開によって次世代の耐性植物作成に向けた基礎的情報収集が可能になると期待される。

論文審査の結果の要旨

近年、地球規模の環境汚染や人口爆発などにより、発展途上国の一部で深刻化している食糧不足が世界中に広がることが懸念されている。本研究は、将来の食糧問題解決に向けた基礎研究として、環境ストレスに対する微細藻類の応答反応に着目し、高等植物のストレスホルモンである Abscisic acid（ABA）の微細藻類における生理作用について検討したものである。

本研究では、真核生物である緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* においては ABA が高等植物と同様に酵素的に生合成され、高等植物よりは限定されているものの、ストレス応答に関するシグナル分子として機能していることを明らかにしている。また、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 においては、高等植物や緑藻のような酵素的生合成経路が存在せず、ABA をシグナル分子とするストレス応答機能が存在しないことを明らかにしている。さらに、これらの結果を総合的に高等植物と比較し、光合成生物における ABA をシグナル分子とした環境ストレス応答の進化プロセス

についての考察を行った。

本研究において初めて行われた光合成生物間の詳細な比較解析は、環境ストレス応答機構の多様性や進化プロセスを解明する上で非常に有効な方法であり、今後の更なる研究の展開によって次世代の耐性植物作成に向けた基礎的情報収集が可能になると期待される。以上の成果は、博士（薬学）の学位論文に値するものと認められる。