The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ストレス環境下におけるAlternative oxidaseの生理学的解析
Author(s)	渡辺, 千尋
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49729
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

【59】

氏　　名	渡　辺　千　尋（わたなべ　ちひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２２６９３　号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 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	**ストレス環境下における Alternative oxidase の生理学的解析**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　柿本　辰男 （副査） 教　授　長谷　俊治　　准教授　高木　慎吾 東京大学准教授　野口　　航

論　文　内　容　の　要　旨

植物ミトコンドリア呼吸鎖には、シアン感受性のシトクロム経路とは別にシアン耐性の alternative oxidase（AOX）を構成要素とするシアン耐性呼吸経路（AOX 経路）が存在する。AOX 経路は電子伝達の際に H^+を輸送しないので ATP 産生とは共役しないが、H^+勾配や ADP による律速を受けない。このため、AOX 経路は還元力が過剰となる条件下で還元力を効率よく散逸すると考えられている。また、AOX は様々なストレス条件下で誘導される。特に、低温や低窒素栄養（低 N）下で強く誘導される。しかし、これらの条件下の AOX 経路の生理学的な役割については曖昧であった。また、これまでの研究は培養細胞を用いたものが多く、これらの知見が光合成を行う実際の植物体にそのまま当てはまるとは考えにくい。そこで本研究では、AOX が誘導される低温と低 N 下における AOX 経路の生理学的役割を明らかにすることを目的とした。シロイヌナズナの野生株（WT）および AOX 欠損株（*aox1a*）を用いて、低温および低 N 実験を行った。さらに、植物呼吸鎖に存在する他の ATP 脱共役経路や抗酸化系の遺伝子発現、炭水化物や炭素・窒素（C/N）比についても調べた。

WT および *aox1a* 植物体を 4℃処理し、生理的な特性を比較した。低温処理により、WT 葉の全呼吸速度およびシアン耐性呼吸速度が増加し、*AOX1a* 発現が誘導された。*aox1a* では、全呼吸速度の増加が WT より著しかったが、他の AOX 遺伝子の誘導は起きなかった。一方、脱共役経路の遺伝子発現は、WT よりも *aox1a* で著しかった。また *aox1a* では抗酸化系遺伝子の発現が WT より誘導された。低温下での AOX 欠損が他の脱共役経路や抗酸化系を誘導し、これらが AOX 経路の役割を補ったと考えられる。つまり、低温下で AOX 経路は呼吸速度の上昇や抗酸化といった複数の機能を担っている。また、*aox1a* では低温下でデンプン量や C/N 比が WT より増大した。AOX の欠損が NADH レベルを変化させ、炭素・窒素代謝のバランス変化を通じて、C/N 比の増大につながった可能性が考えられる。

WT および *aox1a* 植物体を低 N 培地へ移植し、呼吸速度や遺伝子発現の解析、一次代謝産物の定量を行った。低 N 処理により、WT のシアン耐性呼吸速度が増加し、*AOX1a* 発現が誘導された。一方、低温処理で見られた *aox1a* における脱共役経路や抗酸化系の誘導は起こらなかった。さらに低 N 条件下、*aox1a* では、WT と比べてグルコース 6-リン酸が増加し、3-ホスホグリセリン酸や 2-オキソグルタル酸が減少した。*aox1a* では主にシトクロム経路が働き、ATP が効率よく生産され、このような変化が起きたと考えられる。また、低 N 処理を長期間（18、23 日間）行ったところ、*aox1a* の相対成長速度や純同化率が WT より高かった。低 N 下での代謝産物のバランス変化と効率良い ATP 生産が、長期間の低 N 下での成長の違いにつながった可能性が高い。これらの結果より、低 N 処理は AOX を著しく誘導するが、本実験の条件では AOX 経路が有効に働く過還元状態にはならず、誘導された AOX が十分に機能していない状態であったと考えられる。

以上より、AOX 経路の生理的な役割はストレス要因によって異なることが分かった。低温ストレス下では、AOX は素早く誘導され、呼吸鎖の還元状態を回避するために抗酸化系として働くと考えられる。低 N ストレス下では、AOX は比較的ゆっくりかつ長期的に誘導されるが、呼吸鎖を含めた細胞内が還元状態にはならない条件では、抗酸化系として機能しないと考えられる。培養細胞と同様に植物体においてもストレス処理によって AOX は誘導されるが、誘導された AOX が常に還元力の散逸として機能するわけではなく、細胞内の状態に応じて活性を示し、機能すると考えられる。

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

植物ミトコンドリア呼吸鎖にはシアン耐性の alternative oxidase（AOX）が存在する。AOX は H^+勾配や ADP による律速を受けない。そのため、還元力が過剰となるストレス条件下で、還元力を効率よく散逸すると考えられている。また、AOX は様々なストレス条件下で誘導される。特に、低温や低窒素栄養（低 N）下で強く誘導されるが、実際にこれらの条件下の AOX の生理学的な役割については曖昧であった。本申請者は、AOX が誘導される低温と低 N 下での植物体における AOX の役割の解明を目的として、シロイヌナズナの野生株（WT）および AOX 欠損株（*aox1a*）を用いて生理的な特性を比較した。

低温処理を施した植物の呼吸速度やシアン耐性呼吸速度、呼吸系および抗酸化系遺伝子の発現を調べた結果、低温下での AOX 欠損が他の脱共役経路や抗酸化系を誘導し、それらの酵素が AOX の役割を補っていたことを明らかにした。一方、低 N 処理を施した植物を調べた結果、1）WT の *AOX1a* 発現が誘導されたが、低温下で見られたような *aox1a* における脱共役経路や抗酸化系の誘導は起こらなかったこと、2）しかし強光ストレスを与えると *aox1a* では WT よりも光化学系活性が低下していたことを見

いだした。

本申請者の研究から、以下のことが明らかにされた。低温ストレス下では、AOX は素早く誘導され、呼吸鎖の還元状態を回避するために抗酸化系として働くと考えられる。低 N ストレス下では、比較的ゆっくりかつ長期的に誘導されるが、呼吸鎖を含めた細胞内が還元状態にはならない条件では機能しない。しかし強光ストレスが加わり細胞内が還元状態になると、AOX がすみやかに働いて抗酸化系として機能しうると考えられる。植物体においても AOX はストレス下で誘導されるが、常に機能するわけではなく、細胞内の状態に応じて機能していると予想される。

研究の一部は既に 1 本の原著論文として公表され、高く評価されている。また、本申請研究から AOX の生理的な役割を推察する上で基本的な知見が得られた。したがって博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。