

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	中崎 淳子
論文題目	シロイヌナズナ本葉における恒常型 ER body の同定とその食害抑止機能の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>ER bodyは小胞体由来のオルガネラであり、アブラナ目の植物に見られる。アブラナ目植物はグルコシノレート-ミロシナーゼ系と呼ばれる食害虫防御機構をもつ。この防御機構は、二次代謝産物であるグルコシノレートと酵素ミロシナーゼの酵素基質反応に基づく。グルコシノレートとミロシナーゼは平常時には別々の区画に蓄積されているが、植食性生物による食害などで植物組織が崩壊するとグルコシノレートがミロシナーゼにより加水分解されて、外敵に対する揮発性の忌避物質が生成する。この防御系において、ER bodyはミロシナーゼの蓄積場所としての役割を果たし、昆虫や病原菌に対する防御に働くと考えられている。シロイヌナズナの成熟植物体において、ER bodyは根の表皮細胞に見られる。一方、ロゼット葉では傷害時に誘導型ER bodyが形成されるものの、恒常的にはER bodyが存在しないと考えられており、ロゼット葉におけるER bodyの分布は詳しく解析されてこなかった。</p> <p>シロイヌナズナのロゼット葉における恒常的なER bodyの分布を明らかにするために、GFPにより小胞体を可視化した形質転換シロイヌナズナであるGFP-hを用いて、共焦点レーザー顕微鏡により詳細に観察した。その結果、これまでER bodyが存在しないとされてきたシロイヌナズナのロゼット葉において、特定の表皮細胞にER bodyが恒常的に存在することを見出し、これをleaf ER body (L-ER body) と命名した。顕微鏡を用いた観察やリアルタイムPCR解析により、L-ER bodyは蓄積するミロシナーゼやそれらの遺伝子の転写制御の点において、根に見られる恒常的なER bodyとロゼット葉で傷害誘導される誘導型ER bodyの両方の特徴を併せもつ第3のER bodyであることが明らかになった。また、L-ER bodyの形成は恒常型ER bodyの形成に働くbHLH型転写因子であるNAI1を必要とすること、誘導型ER bodyの形成機構とは異なることを明らかにした。</p> <p>オカダンゴムシを用いた食害実験により、L-ER bodyを形成しない変異体は野生型に比べてオカダンゴムシによる食害を受けやすいことが明らかとなった。また、LC-MSを用いてL-ER body形成不全変異体におけるグルコシノレート加水分解能を解析した結果、同変異体ではグルコシノレートの一種である4MI3Gの加水分解に異常があることが分かった。以上の結果より、L-ER bodyは4MI3Gの加水分解に機能し、その分解産物がオカダンゴムシの摂食行動を抑制していることが示唆された。シロイヌナズナのロゼット葉には、L-ER bodyとは異なるミロシナーゼを蓄積する異形細胞のミロシン細胞が存在する。ミロシン細胞に蓄積するミロシナーゼを欠損した変異体を用いて、同様の食害実験とLC-MS解析を行った結果、ミロシン細胞はオカダンゴムシの摂食行動に影響を与えず、4MI3Gの加水分解にも関与しないことが判明した。</p> <p>以上の成果により、シロイヌナズナのロゼット葉には特定の表皮細胞にL-ER bodyが存在し、植食性生物に対する食害抑止に機能することが明らかとなった。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

中崎淳子氏は、小胞体由来のオルガネラであるER bodyを研究対象とした。ER bodyは内部にミロシナーゼを蓄積することから、アブラナ目植物に特徴的なグルコシノレート-ミロシナーゼ防御系に機能すると考えられている。中崎氏はこれまで存在しないと考えられてきたシロイヌナズナのロゼット葉において恒常的にER body (L-ER body) が存在することを発見した。ロゼット葉におけるL-ER bodyの分布は、細長く伸長した表皮細胞に限定されており、このように形態的に特徴のある表皮細胞に共通して見出されたという点でも興味深い。また、中崎氏はロゼット葉のL-ER bodyが既報のER bodyとは異なる性質をもつことを明らかにした。植物では、細胞内外から受けるストレスに応じて、小胞体から機能を特化させたオルガネラを派生させることが知られている。中崎氏の発見は小胞体の生体防御機能に関する研究の発展に貢献するものとして高く評価できる。

中崎氏は、L-ER bodyがオカダンゴムシに対して食害を抑止する効果をもつことを明らかにした。これはER bodyが食害に対する防御に機能することを証明した初めての例である。一方で、ミロシン細胞はオカダンゴムシの摂食行動に影響を与えないことを明らかにした。グルコシノレート-ミロシナーゼ防御系において、これまでER bodyやミロシン細胞といった異なるミロシナーゼ蓄積場所が存在する意義については不明な点が多く、それらが同一生物の摂食行動に与える影響の違いを検証した研究はこれまでになかった。本研究により示されたL-ER bodyとミロシン細胞がオカダンゴムシの摂食行動に与える影響の違いは、グルコシノレート-ミロシナーゼ防御系への理解を深める上で非常に重要な知見といえる。

中崎氏は、L-ER bodyに蓄積するミロシナーゼを欠損した変異体では、グルコシノレートの一種である4-Methoxyindol-3-ylmethyl glucosinolate (4MI3G) を正常に加水分解できないことを明らかにした。このことから、L-ER bodyに蓄積するミロシナーゼは4MI3Gの加水分解に特異的に機能することが示唆された。一方で、ミロシン細胞に蓄積するミロシナーゼは4MI3Gの加水分解には異常は見られなかった。ミロシナーゼはグルコシノレートに対して基質特異性をもつと考えられている。グルコシノレートはアブラナ目植物ではこれまでに約130種が同定されており、側鎖構造によって異なる加水分解産物を生成する。しかし、ミロシナーゼがどのグルコシノレートを基質にするのかについては未だ不明な点が多い。中崎氏の結果は、シロイヌナズナのロゼット葉が、異なる基質特異性をもつミロシナーゼを異なる場所に蓄積することで、異なる外敵に対する防御機能を効果的に成立させていることを示唆している。

本研究は、シロイヌナズナ本葉に恒常的に存在するL-ER bodyを同定し、植食性生物に対するER bodyの防御機能を証明したという点で、グルコシノレート-ミロシナーゼ防御系に関する研究に新しい視点を与えたものとして高く評価できる。本論文の内容の一部は、植物生理学の有力国際学術誌の一つである*Plant Physiology*誌に掲載された。中崎淳子氏が実施した研究の質は高く、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成31年1月24日に論文内容とそれに関連した事項について口頭試問を行った。その結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降