

# 論文審査の結果の要旨

氏名 藤田 貴志

本論文は6章からなる。第1章は序章、第6章は総合考察である。研究内容は大きく4つに分けられ、第2章～第5章に記述されている。

第1章では、気孔の機能と構造、環境要因に対する気孔の開閉応答が概説され、気孔開閉の制御機構について、これまでの知見と未解明の課題がまとめられている。とくに気孔開閉に葉肉組織が関与する可能性が詳しく論じられ、過去の研究では受動的な気孔開口のために気孔応答を正しく評価できていなかったおそれがあることが指摘されている。最後にこれらを踏まえ、より生理的な条件の下で解析を行い、葉肉組織による気孔開閉制御の存在とその様態を明らかにするという、研究の目的が示されている。

第2章では、気孔の光応答・CO<sub>2</sub>応答に対する葉肉組織の影響に関する解析が記述されている。解析に当たっては、緩衝液を含むゲル上にツユクサの剥離表皮を直接、あるいは葉肉組織と密着させて置き、光とCO<sub>2</sub>をコントロールしつつ気孔の開閉を観察する、新たな実験系が開発された。この系では、気孔腔に気体がある状態を保ちつつ、受動的開口のない良好な生理的状态を維持できる。実験の結果、白色光下で開いた気孔の高CO<sub>2</sub>による閉鎖と赤色光による気孔開口が葉肉組織との密着により促進されることが示された。さらにこれらの結果に基づき、赤色光や高CO<sub>2</sub>による気孔開閉の制御は葉肉組織由来の何らかのシグナル（葉肉シグナル）を介している、という仮説が提示された。

第3章では、葉肉シグナルの特性に関する解析が記述されている。剥離表皮と葉肉組織の間に各種の薄膜を挟んで気孔応答を見る実験において、気体連絡部をもつポリエチレン製薄膜で葉肉組織の効果が遮断されたこと、高CO<sub>2</sub>による気孔閉鎖は透過分子の分子量上限が500～1,000の透析膜では抑制されず、上限100～500の透析膜で抑制されたこと、赤色光による気孔開口はいずれの透析膜でも抑制されなかったことから、気孔開口と閉鎖に関わる葉肉シグナルは、それぞれ分子量500未満と分子量100

～1,000の水溶性物質であると推定された。一方、光合成阻害剤を用いた実験により、高CO<sub>2</sub>による気孔閉鎖は葉肉組織の光合成に依存しないが、赤色光による気孔開口は葉肉組織の光合成に強く依存することが示された。また、剥離表皮と葉片とに赤色光を照射し、表皮の代謝物を分析する実験では、葉片表皮試料において、数種の有機酸の濃度が増大していた。これらの有機酸のうちクエン酸が剥離表皮の気孔開口を促進したことから、クエン酸が気孔開口を促す葉肉シグナルである可能性が示唆された。

第4章では、気孔開閉への葉肉組織の関与を再検証した解析が記述されている。第2章の解析においては、緩衝液を含むゲルに直接置いた剥離表皮と、葉肉組織の上に置いた剥離表皮とで比較を行っており、緩衝液の作用などが気孔応答に影響している可能性が排除されていなかった。この問題に関し、異なる条件で前処理を施した葉肉組織の上に剥離表皮を移植して気孔応答を見る実験により再検討がなされた。その結果、赤色光照射葉肉組織を用いたときの方が暗処理葉肉組織を用いたときより気孔が大きく開いていたこと、高CO<sub>2</sub>処理葉肉組織を用いると気孔開口が低下したことから、赤色光による気孔開口と高CO<sub>2</sub>による気孔閉鎖への葉肉組織の関与が改めて確認された。

第5章では、孔辺細胞細胞膜H<sup>+</sup>-ポンプの検出方法に関する実験が記述されている。この実験により、気孔応答の指標となり得る細胞膜H<sup>+</sup>-ポンプのリン酸化について、ツクサ表皮に適用できるよう検出方法の改良と検討が行われた。

第6章では、以上の研究が総括され、総合的な考察と今後の展望が述べられている。

研究全体を通して得られた結果は多大であり、気孔開閉制御における葉肉組織の役割に関し、きわめて重要な新情報を提供している。本論文は、これらの研究成果を正確な図表と明快な英文で記述している。実験結果の考察では、様々な可能性について丁寧な検討がなされ、合理的な結論が導かれている。また、当該分野の文献は、過不足なく適切に引用されている。

なお、本論文に記載された研究は、指導教員で審査委員の寺島一郎（東京大学大学院理学系研究科教授）のほか、野口航（東京大学大学院理学系研究科准教授、2015年10月より東京薬科大学生命科学部教授）、木下俊則（名古屋大学大学院理学研究科教授）、柳澤修一（東京大学生物生産工学研究センター准教授）、榊原均（理化学研究所環境資源科学研究センターグループディレクター）との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および論証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。