

# 論文審査の結果の要旨

氏名 溝上祐介

本論文は5章からなる。第1章はイントロダクションである。C3植物の葉の光合成において、基質であるCO<sub>2</sub>は濃度勾配にしたがって大気から葉緑体へと拡散する。この拡散過程には、気孔抵抗、葉肉抵抗が存在する。気孔コンダクタンス ( $g_s$ )、葉肉コンダクタンス ( $g_m$ ) は抵抗の逆数である。 $g_s$ は、CO<sub>2</sub>が葉外から気孔を経て細胞間隙へと拡散する際の、 $g_m$ は、細胞間隙のCO<sub>2</sub>が細胞壁のアポプラスト液に溶解込み、細胞膜、サイトゾル、葉緑体包膜、ストロマを経て炭酸固定酵素であるRubisCOに至る際の拡散コンダクタンスである。これらのコンダクタンスを葉面積あたりで表すと同程度の大きさになり、両者ともに光合成の大きな律速要因となっている。近年、乾燥や高CO<sub>2</sub>濃度処理により短時間で $g_m$ が低下することが報告されている。しかし、これらの報告では、信頼性の低い蛍光法で $g_m$ が求められている。第1章では、こうした背景、現状が解説され、それらを踏まえて、本研究の目的として、1) 信頼性が高い安定同位体法を用いた高精度の $g_m$ 測定システムを構築し、測定のための理論を検討すること、2) 土壌乾燥時や高CO<sub>2</sub>濃度下における $g_m$ の変化を精査し、その変化のメカニズムに迫ることが述べられている。

第2章には、土壌乾燥時の $g_m$ の低下に関する解析が記載されている。この解析では、*Nicotiana plumbaginifolia*の野生型と、乾燥時の応答において重要な役割を果たす植物ホルモンABAの合成酵素の変異体(*aba1*)とが用いられた。新たに構築した安定同位体法によるシステムで $g_m$ を測定し、野生型では、乾燥条件において、 $g_s$ だけでなく $g_m$ も低下することを明確に示した。一方、*aba1*では、乾燥条件においても、 $g_s$ も $g_m$ も低下しなかったが、ABAを与えると、どちらも低下した。この結果から、乾燥時には、 $g_s$ のみならず、 $g_m$ の低下にもABAが作用していることが明らかになった。また、CO<sub>2</sub>濃度に対する応答も調べ、高CO<sub>2</sub>で $g_m$ が低下すること、この低下にはABAは関与しないことも示した。

第3章では、*Arabidopsis thaliana*の野生型と、気孔が閉じにくい変異体(*ost1*、*slac1-2*)とを、現在のCO<sub>2</sub>濃度の約2倍に当たる780 ppmのCO<sub>2</sub>を含む空気の中に短時間(数分~数時間)置いた場合と、780 ppm CO<sub>2</sub>の空気中で数週間栽培した場合の $g_s$ と $g_m$ の変化を解析した。高CO<sub>2</sub>条件では、処理時間の長さによらず、 $g_s$ と $g_m$ が低下した。また、変異体

を用いた実験結果は、 $g_m$ の低下が $g_s$ の低下と独立に起こることを明示した。本章では、呼吸や光呼吸からの $CO_2$ 再固定が $g_m$ 測定に及ぼす影響についても検討し、結果の信頼性を確認している。

第4章では、*ost1*、*slac1-2*に加えて、水透過性膜タンパク質であるアクアポリンのうち、葉で多く発現している細胞膜アクアポリン遺伝子のT-DNA挿入変異体 (*pip1;2*、*pip2;3*、*pip2;6*) を用い、これらの $g_s$ と $g_m$ が $CO_2$ およびABAにどのように応答するのかを比較した。*ost1*と*slac1-2*では、栽培時から内生ABAが高まっており、おそらくこのために、 $g_m$ のABAに対する応答がほとんど見られなかった。PIPの変異体の中では*pip2;6*がABAへの $g_m$ の応答に明瞭な異常を示し、ABAを与えても $g_m$ がほとんど低下しなかった。*PIP2;6*は葉脈で発現するので、*PIP2;6*が葉の通水性を制御し、間接的に $g_m$ に影響を及ぼす可能性を指摘した。高 $CO_2$ 条件では、全てのPIPの変異体の $g_m$ が野生型と同程度に低下した。 $CO_2$ に応答した $g_m$ の低下と乾燥やABAに応答した $g_m$ の低下のメカニズムが異なる事が強く示唆された。

第5章では、これらの結果が総合的に議論されている。また、今後、PIPの各分子種の性質を調べ、細胞内でヘテロテトラマーをつくる際の調節、膜胞内に取込まれる制御などの可能性を生化学的、分子生物学的、細胞生物学的に検討しなければならないことなどが論じられている。さらに、現在大気の $CO_2$ 濃度が著しい勢いで上昇していること、しばしば乾燥が植物にとって最も重大なストレスとなることを踏まえ、こうした環境下で高い光合成速度を示す植物を選抜、創成するために、本研究のような研究を発展的に継続することの重要性が述べられている。

本研究は $g_m$ の $CO_2$ 濃度や乾燥への応答に関する重要な知見を見出した画期的なものである。本研究は、寺島一郎、野口航、榊原均、小嶋美紀子との共同研究ではあるが、研究の立案、測定装置の改良、測定理論の検討、実験、論文の執筆の全てを論文提出者が主体となって行ったものである。したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。