

氏名	早津 学
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博乙第 49 号
学位授与の日付	2015 年 9 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文の題目	植物の根の重力屈性反応に伴う細胞内外 Ca 動態に関する研究
論文審査委員	主査 神奈川大学 教授 鈴木 季直
	副査 神奈川大学 准教授 安積 良隆
	副査 神奈川大学 教授 井上 和仁
	副査 神奈川大学 教授 箸本 春樹
	副査 神奈川大学総合理学研究所 客員教授
	兼 横浜国立大学 名誉教授 笹本 浜子

【論文内容の要旨】

本論文は、植物の根の重力屈性の調節機構に果たす Ca の役割を解明するために、重力屈性反応に伴う細胞内外の Ca 動態について高度な電子顕微鏡技法を駆使して研究した結果について述べたものである。論文は、第一章の序論、第二章から第六章までの重力屈性反応に伴う根の細胞の微細構造変化と Ca 動態の解析結果、および第七章の総括から構成されており、植物の根では、Ca が重力刺激に応じて動的な細胞内外移動を行い、そのことが根の重力応答を引き起こす大きな要因として作用していることを明らかにしている。

以下、各論ごとにその要旨を述べる。

第一章 序論

序論は、本論文研究の背景および目的を明らかにすべく、根の重力屈性機構に関して行われて来たこれまでの研究について概説し、機構全般の理解のために必要とされる解決されるべき課題について論述している。

陸上植物が水分や栄養塩類を吸収するために重力刺激に応じて根を地中深くに伸長する重力屈性は、これまでの研究により、重力刺激の受容、シグナルの伝達、重力刺激応答としての伸長成長の三つの段階を経て生じていると考えられている。これらの段階のうち、第一段階の重力刺激の受容と第三段階の伸長成長は、それぞれ、デンプン平衡石説と植物ホルモンのオーキシンによる成長制御で説明されているが、第二段階のシグナル伝達についてはまだ明確な説明はなされていない。多くの生理機能においてそうであるように、カルシウム (Ca) はこのシグナル伝達を担う有力な候補であることがこれまでに示唆されているが、このことと関連づけて考察しうる Ca の細胞内外の分布や重力屈性に伴う動態についての知見は十分に得られていない。重力屈性に伴う Ca 動態を明らかにすることは、重力屈性とその調節機構を理解する上での重要な手懸りを与えるものと考えられる。この観点に立ち、本論文研究では、凍結切片を対象とする定量的元

素分析法を軸とする高度な電子顕微鏡技法を駆使し、ダイズの根の根端における細胞内外の Ca 分布と育成環境の変化に伴う Ca 動態を明らかにする試みを行ったことを示した。

第二章

本章は、研究全般の基礎的知見を得る目的で行われた重力下または疑似微小重力下で成長させたダイズ根の微細構造観察の結果と、それに基づいて検討された平衡石説の妥当性について論述している。

平衡石説では、根の重力感知細胞とされる根冠コルメラ細胞においてアミロプラストが平衡石として機能すると言われている。重力下とクリノスタットを用いた疑似微小重力下で成長させた根のコルメラ細胞を透過型電子顕微鏡で観察し、重力下で成長させた根では、コルメラ細胞の下部に偏在していたアミロプラストが、疑似微小重力下で重力方向が攪乱されると細胞内に広く分散分布することを明確にし、ダイズの根でも重力屈性における重力刺激の受容は平衡石説で説明しうることを示した。

第三章

第三章からは、電子顕微鏡による Ca 動態研究の結果についての論述となる。本章では、細胞内の動的変化の検出に有効とされるピロアンチモン酸(PA)細胞化学を適用して行われた疑似微小重力下のダイズの根の Ca 動態解析について論述している。

重力下または疑似微小重力下で成長させた根を PA 法で化学固定し、PA 沈澱の細胞内分布を比較検討し、疑似微小重力下で成長させた根のコルメラ細胞内の Ca を含む PA 沈澱の数が重力下で成長させた根よりも細胞質基質で減少し、液胞内で増加することを明らかにした。これにより、重力方向の攪乱に伴い、細胞内で Ca が細胞質基質から液胞内へと移動する可能性と、Ca が重力屈性反応に強く関わっていることを示した。

第四章

本章は、凍結切片の X 線マイクロアナリシスにより細胞内外各部の Ca 濃度を電子顕微鏡下で定量測定できる、所謂、定量的元素分析法により行われた疑似微小重力下のダイズの根の Ca 動態解析について論述している。

重力下で成長させた根と比べた時、疑似微小重力下で成長させた根のコルメラ細胞の Ca 濃度は、細胞壁、細胞質基質および液胞内腔では変化していなかったが、新規発見の液胞内高電子密度構造では顕著に増加することを明らかにした。この増加は、重力方向の攪乱により液胞内高電子密度構造以外の部位から Ca が移動した結果と考えられるので、第三章の結果と同様に、Ca が細胞質基質から液胞へと移動し、液胞内高電子密度構造へと蓄積されることを示した。なお、各部の濃度比較に基づき、細胞内の増加 Ca は細胞外から供給されることを示した。一方、液胞内高電子密度構造ではカリウム (K) と Ca との濃度変化が逆相関的に生じることも示した。

第五章

本章は、重力屈性におけるアポプラスト（細胞壁領域）を経由する Ca 移動を明らかにするために、ダイズの根を垂直位から水平位へと再配向して重力刺激の方向を変えた時の伸長帯の Ca 分布変化を定量的元素分析法により解析した結果について論述している。

ダイズの根を垂直位から水平位にし、伸長帯を堺としてそれより先端部を空間に突出させておくと、伸長帯を屈曲点として、先端部は重力方向に向かって屈曲する。この時の根冠コルメラ細

胞と伸長帯皮層細胞の微細構造を観察し、アミロプラストの重力方向への移動はコルメラ細胞では見られたが、皮層細胞では見られず、前者は重力刺激の受容細胞であること、後者はその機能を持たないことを明らかにした。一方、根を水平に再配向すると、細胞壁の Ca 濃度は時間経過に伴って伸長帯の上半分で減少し、下半分で増加することを明らかにし、重力屈性反応に伴い Ca がアポプラストを経由して上部から下部へと移動することを示した。

第六章

本章は、アポプラストを経由する Ca 移動と細胞外から細胞内、さらに液胞内への Ca 流入経路を明らかにするために、高濃度の Ca 溶液で成長させた時のダイズ根のコルメラ細胞の Ca 分布変化を定量的元素分析法により解析した結果について論述している。

高濃度 (50 mM) の Ca 溶液を与えて成長させると液胞内高電子密度構造の数と大きさは増し、細胞壁、細胞質基質、液胞内腔および液胞内高電子密度構造の Ca 濃度は増加することを明らかにした。これにより、ダイズの根では、Ca が根の外側からアポプラストを経て移動し、コルメラ細胞内に流入し、さらに細胞質基質から液胞内に流入してそこで液胞内高電子密度構造に蓄積される系が機能しているという考えを強く支持する結果を示した。

第七章 総括

総括において論文全体をまとめて論述し、環境条件を変えることにより与えられた様々な重力刺激を受容した時に根端で生ずる Ca 動態の実態を明確にし、Ca が重力屈性に重要な役割を果たしていることを示した。

【論文審査の結果の要旨】

本論文は、植物の根の重力屈性において、これまでに十分な知見が得られていない重力刺激の受容と伸長成長との連関過程を明らかにすべく、その過程に重要な役割を果たすと考えられる Ca に注目し、ダイズ根の重力屈性反応に伴う細胞内外の Ca 動態について高度な電子顕微鏡技法を駆使して研究した結果について述べたものである。

総括でまとめられているように、本論文は、重力屈性に応答するコルメラ細胞を含む根端全体で、重力刺激に対して非常に動的な Ca 移動が生じており、その動態自体がまた、重力屈性に伴う根の伸長やある方向への屈曲を引き起こす要因となっていることを明確に示している。コルメラ細胞内での Ca 移動に液胞と液胞内高電子密度構造が重要な役割を果たしていること、液胞内に Ca を結合または遊離する Ca 貯蔵構造相当の液胞内高電子密度構造を新規に発見し、その役割をも明らかにした点は高く評価できる。また、主たる手法として研究に用いられた定量的元素分析法により、超微細構造レベルで詳細な Ca 動態を明らかにすることに成功しており、それにより有意義な多くの知見を導き出していることも評価に値する。以上、本論文は本邦のみならず世界における植物生理学、植物形態学、細胞生物学及び電子顕微鏡による生物機能研究に大きく貢献するものと認め、博士 (理学) に相応しいと思量するものである。