

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 永 嶋 鮎 美

---

生物は様々な刺激を通じて外界の環境を認識し、環境に対して適切な応答をする。それらの刺激の中でも、化学物質は最も多様性に富んでおり、様々な情報を有する。動物が感知する外界の化学物質のうち、匂い物質と呼ばれるものは、一般的に分子量約 300 以下の揮発性有機化合物である。植物もまた、揮発性有機化合物を受容し、その情報に応答していると考えられるようになってきた。例えば、病害や食害を受けた植物から放出される揮発性化合物に曝された植物は、被害に備えて抵抗性を上昇させる。しかし、植物は動物のような嗅覚受容体や嗅神経系を持たないため、植物が外界の揮発性化合物をどのように受容しているのかは、未だ不明である。

本研究では、植物が匂いなど揮発性化合物を感知する分子機構を解明することを目的とした。具体的には、「タバコの細胞における (*E*)- $\beta$ -caryophyllene による *NtOsmotin* の発現誘導」を、植物の揮発性化合物に対する応答のモデル系とし、タバコにおける (*E*)- $\beta$ -caryophyllene の受容に関わる分子機構の解明を目指した。

第一章では、哺乳類において、揮発性有機化合物が嗅上皮で感知されるとき、嗅粘液内に分泌される酵素によって酵素反応をうけ、その結果、匂い知覚に影響がでるといふ実験結果を示している。鼻と嗅覚神経系をもたない植物における揮発性化合物の受容機構を考えるうえで、有用な示唆的な知見である。

第二章では、植物個体における揮発性有機化合物による遺伝子発現誘導の検討をおこなった。以前に、タバコ培養細胞 BY-2 において、テルペンの一種である (*E*)- $\beta$ -caryophyllene が、*NtOsmotin* の発現を誘導することが見出されているので、タバコ植物体において、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene による *NtOsmotin* 発現が見出されるか調べた。その結果、明期、暗期ともに、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene 曝露開始から 6 時間で *NtOsmotin* の発現量が上昇し、8 時間で飽和に達した。上昇は、葉で最も顕著に見られたが、根でも上昇傾向が見られた。*Osmotin promoter* :: *GUS* 配列を組み込んだタバコ個体でレポーター遺伝子アッセイをおこなったところ、葉の辺縁部で最も顕著な反応が見られた。また、*NtOsmotin* 発現量を上昇させる (*E*)- $\beta$ -caryophyllene の実効濃度を明らかにした。様々なマーカー遺伝子に着目したところ、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene による *NtOsmotin* の発現誘導は、ジャスモン酸経路やサリチル酸経路を介した情報伝達だけで起こるわけではないことが示唆された。構造活性相関を調べたところ、 $\alpha$ -caryophyllene には発現誘導活性が見られたものの、caryophyllene oxide には活性がなかった。シロイヌナズナにおいては、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene による *Osmotin* 遺伝子の発現誘導は起こらないことが示された。これらの結果は、タバコで (*E*)- $\beta$ -caryophyllene を特異的に認識する受容因子が存在していることを示唆している。

第三章では、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene による *NtOsmotin* の発現誘導の情報伝達経路を明らかにする一歩として、細胞内カルシウムイオン濃度の変動に着目した。具体的には、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene

応答に伴い、細胞内カルシウムイオン濃度が変動するか検証することを目的として、カルシウムイメージング法の確立を試みた。カルシウムイオン感受性蛍光色素、カルシウムイオン感受性蛍光タンパク質 GCaMP2 を用いたカルシウムイメージング系の確立を試みた。

第四章では、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene を特異的に認識する因子を同定するために、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene 誘導体の合成をおこない、(*E*)- $\beta$ -caryophyllene を固定化したビーズを作製することに成功した。

以上、植物が揮発性化合物を受容できるかどうかに関しては、長年真偽が問われ続けてきたが、本研究は、植物において揮発性化合物を受容する機構が確かに存在することを、植物培養細胞および植物個体で明確に示したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。