

論文の要約

報告番号	甲 第 989 号	氏名	迎 恭輔
学位論文題目	ヒメツリガネゴケの環境ストレス応答におけるオートファジーの生理的意義		
<p>オートファジーは細胞が自らの細胞質の一部を液胞やリソソームで分解する現象である。オートファジーの主な生理的役割は、栄養飢餓時における細胞成分のリサイクリングやストレスにより変性したタンパク質の分解である。一般的に、酵母やシロイヌナズナなどの <i>atg</i> 変異体は外部環境に敏感であることから、生物がその変化に適応するためにオートファジーが重要な役割を果たしていると考えられている。</p> <p>生物が乾燥ストレスから生命を維持させるための機構として、細胞内への糖や保護タンパク質の蓄積などが知られている。この機構に、オートファジーも関与することが予想されるが、乾燥ストレス応答におけるオートファジーの機能は理解されていない。そこで、本研究では、コケ植物ヒメツリガネゴケ (<i>Physcomitrella patens</i>)を用いて、オートファジーに必須な <i>ATG5</i> 遺伝子を破壊した株 (<i>atg5</i> 株)を作製し、乾燥ストレス下での野生株 (WT) と <i>atg5</i> 株の反応を比較した。</p> <p>アブシジン酸 (ABA)で 24 時間処理することで乾燥耐性を増大させたヒメツリガネゴケ原系体コロニーを、シリカゲルを用いて脱水し、その後、吸水させて培養すると、吸水直後には緑色だったコロニーは退色した。ただ、退色の度合は WT と <i>atg5</i> 株で差があり、吸水 3 日後には WT が茶色になったのに対して、<i>atg5</i> 株は緑色を保持した。これは、オートファジーが乾燥耐性能力を低下させていることを示している。</p> <p>ABA と乾燥処理後、<i>atg5</i> 株は WT に比べて含水量やタンパク質含量が高く、<i>atg5</i> 株におけるスクロース蓄積量は WT よりも多い傾向を示した。これは、オートファジーが欠損していることによって <i>atg5</i> 株の細胞内構成が WT とは異なり、その差が脱水過程や吸水過程で発生する傷害の程度に影響を与えていることを示唆している。</p> <p>定量 RT-PCR による解析と、オートファジー関連タンパク質 8 と GFP の融合タンパク質を恒常的に発現する細胞の解析から、吸水 12 時間から 24 時間にかけてオートファジーが起こることを明らかにした。吸水過程でオートファジー阻害剤 3-メチルアデニン (3-MA)を用いて野生株のオートファジーを阻害すると、有意にタンパク質分解が抑えられ、乾燥ストレスからの生存率が上がった。3-MA によってリボソーム RNA の分解も抑制されていた。これらの結果は、吸水後 24 時間までにオートファジーが起こり、このオートファジーが細胞内タンパク質やタンパク質合成の場であるリボソームを分解することで乾燥ストレス後の生存率を低下させるのに関与していることを示している。</p> <p>本研究では、乾燥ストレスに対しては、WT よりオートファジー欠損株の方が生存能力が高いことを見出した。この原因は 2 つに分けて考えられた。ひとつはオートファジーが欠損すると細胞の構成が異なるため細胞が受ける傷害が軽減されることであり、もうひとつは、吸水後の細胞が傷害を修復しながら生存していく過程で、オートファジーがリボソームを含む細胞内構造を分解することで細胞を死に導いている可能性である。</p>			