

氏名	ウメカワ ユイ <b>梅川 結</b>
本籍（国籍）	秋田県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第連研 690 号
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 寒冷圏生命システム学
学位論文題目	<b>植物の恒温性に関わる温度応答性呼吸調節メカニズムに関する研究 (Studies on the temperature-dependent respiratory control in plants)</b>
学位審査委員	主査 岩手大学教授 伊藤 菊一 副査 高橋 秀行 (岩手 客員教員), 三橋 渉 (山形 教授), 葛西 身延 (弘前 教授), 斎藤 靖史 (岩手 准教授)

## 論文の内容の要旨

温度は生命現象に影響を与える大きな要因の一つである。温度の影響を回避するため、哺乳類および鳥類を含む動物は、恒温性と呼ばれる自律性体温調節システムを介し、外気温から独立した体温を維持している。動物における恒温性は、神経系を介した複雑なメカニズムにより達成されているが、興味深いことに、開花期特異的な熱産生を行うある種の植物においてもこのような恒温性が観察されることが知られている。例えば、早春の寒冷環境下で開花するサトイモ科植物の一種であるザゼンソウは、氷点下を含む外気温の変動においても、肉穂花序と称される花器の温度を 23°C 内外に維持できる恒温性を有している。ザゼンソウにおいて観察される恒温性は、肉穂花序の温度と逆相関を示す呼吸調節により達成されることが示されていたが、植物の恒温性を統御する分子基盤は長い間不明のままであった。本研究においては、ザゼンソウを含む発熱植物の恒温性に関わる呼吸調節メカニズムを明らかにすることを目的に一連の実験と解析を行った。

はじめに、ザゼンソウの発熱性肉穂花序における呼吸速度と温度との関係に着目し、呼吸の温度応答性解析に関する理論体系の構築を行った。さらに、化学反応速度に密接に関連する活性化エネルギーの算出が可能な修正アレニウスモデルを用い、フィールドで得られた呼吸の温度応答データを詳細に解析した。その結果、ザゼンソウ肉穂花序における呼吸反応に関わる活性化エネルギー ( $E_0$ ) を算出することに成功するとともに、得られた  $E_0$  値が温度に対して動的に変動し、本植物の恒温性が観察される呼吸調節範囲において、負の値を生じることを明らかにした。これまで生物システムにおいて負の活性化エネルギー

に関する報告例はないが、化学分野においては、負の活性化エネルギーは温度上昇が化学反応速度の低下を引き起こす反応において観察され、この現象には前駆平衡と呼ばれる特異な化学平衡が関与していることが報告されている。従って、恒温性を有するザゼンソウの発熱性肉穂花序においても、前駆平衡反応に基づいた呼吸反応が行われていることが示唆された。

前駆平衡反応は、反応の速い可逆的反応と、その後の不可逆的反応から構成されるが、ザゼンソウの呼吸反応においては、炭水化物の酸化還元に関わる脱水素酵素を介した可逆的反応と、それにより生じる電子を用いたミトコンドリア末端呼吸酵素(AOX および COX)による不可逆的な酸化反応が負の活性化エネルギーを生じる前駆平衡を形成していると考えられる。

負の活性化エネルギーが生じる実験系を *in vitro* において再構成することを目的に、ザゼンソウ発熱組織から単離したミトコンドリアを用いた呼吸解析を行った。その結果、前駆平衡に基づく呼吸反応を再構成した場合においてのみ、負の活性化エネルギーが特異的に観察されることが判明した。また、*in vitro* における再構築系における前駆平衡の形成には、ミトコンドリアのマトリクス内で NADPH 産生に関わるイソクエン酸デヒドロゲナーゼによる吸熱反応が重要であることが示された。さらに、不可逆的な酸素消費反応を触媒するミトコンドリア末端呼吸酵素である AOX および COX を介したそれぞれの呼吸経路の温度感受性を解析したところ、AOX 経路がより高い温度感受性を示すことが判明した。ATP 合成に関与しない AOX を介した酸素消費は熱散逸的に働くことから、熱産生への関与が指摘されていたが、AOX が触媒する呼吸はザゼンソウの恒温性においても重要な機能を有していることが明らかとなった。

さらに、ザゼンソウ以外の恒温性を有する発熱植物（ハスおよびドラゴンリリー）や非発熱植物（エンドウおよびコムギ）の呼吸に関する温度応答について、修正アレニウスモデルを用いた解析を行った。その結果、恒温性を示す発熱植物においては、いずれもザゼンソウと同様の負の活性化エネルギーが生じることが判明したが、非発熱植物においては、負の活性化エネルギーは観察されなかった。これらの結果は、負の活性化エネルギーが生じる前駆平衡に基づく呼吸調節は、恒温性を示す発熱植物に特異的なメカニズムであることを示唆している。

以上のように、本研究においては、発熱反応および吸熱反応から構成される前駆平衡反応に基づいた呼吸調節が植物の恒温性において重要な役割を担っていることを明らかにした。温度変化は化学平衡の平衡点のシフトを引き起こすことから、本研究において提示された負の活性化エネルギーを生み出す前駆平衡反応は、植物の熱制御のみならず、温度センシングメカニズムとしても機能しうることが示された。これらの知見は植物の恒温性を含む生物のホメオスタシスに関わる基本原理のより深い理解に繋がるものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

早春に開花する発熱植物ザゼンソウは、氷点下を含む外気温の変動においても、肉穂花序の温度を 23℃程度に維持できる恒温性を有している。ザゼンソウにおいて観察される恒温性は、肉穂花序の温度と逆相関を示す可逆的な呼吸調節により達成される。本研究においては、ザゼンソウの発熱性肉穂花序における呼吸速度と温度との関係に着目し、フィールドで得られた呼吸の温度応答データを用いた修正アレニウスモデルによる解析を行った。その結果、ザゼンソウ肉穂花序における呼吸反応に関わる活性化エネルギーが温度に対して動的に変動し、本植物の恒温性が観察される呼吸調節範囲においては、負の値を示すことが明らかとなった。さらに、フィールドで発熱しているザゼンソウにおいて観察された負の活性化エネルギーは、発熱組織から単離したミトコンドリアを用いた *in vitro* 呼吸解析系においても再現できることが判明した。また、熱力学的な解析から、負の活性化エネルギーは、前駆平衡と呼ばれる特異な化学平衡反応において生じることを示すと共に、*in vitro* 呼吸解析系における前駆平衡の形成には、ミトコンドリアのマトリクスにおいて NADPH 産生に関わるイソクエン酸デヒドロゲナーゼによる吸熱反応が関わっていることを明らかにした。

さらに、ザゼンソウ以外の恒温性を有する発熱植物（ハスおよびドラゴンリリー）や非発熱植物（エンドウおよびコムギ）の呼吸に関する温度応答について、ザゼンソウと同様の解析を行ったところ、負の活性化エネルギーは恒温性を示す植物においてのみ観察されることが判明した。

これらの結果は、植物の恒温性における負の活性化エネルギーの重要性を示している。さらに、本研究で明らかになった温度に依存した化学平衡の移動は、より広範囲の生命現象において温度センシングメカニズムとしても機能している可能性が考えられた。

本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

### 【主論文】

1. Y. Umekawa, R.S. Seymour and K. Ito (2016).

The biochemical basis for thermoregulation in heat-producing flowers. *Scientific Reports* **6**: 24830.

【参考論文】

1. K. Ito, H. Takahashi, Y. Umekawa, T. Imamura, S. Kawasaki, T. Ogata, Y. Kakizaki and R.S. Seymour (2013).  
Metabolite profiling reveals tissue- and temperature-specific metabolomic responses in thermoregulatory male florets of *Dracunculus vulgaris* (Araceae). *Metabolomics* **9** (4): 919-930.
2. R.S. Seymour, K. Ito, Y. Umekawa, P.G.D. Matthews and S.A. Pirintsos (2015).  
The oxygen supply to thermogenic flowers. *Plant Cell & Environment* **38** (4): 827-837.
3. Y. Onda, K. Mochida, T. Yoshida, T. Sakurai, R.S. Seymour, Y. Umekawa, S.A. Pirintsos, K. Shinozaki and K. Ito (2015).  
Transcriptome analysis of thermogenic *Arum concinatum* reveals the molecular components of floral scent production. *Scientific Reports* **5**: 8753.
4. M.A. Sayed, Y. Umekawa and K. Ito (2016).  
Metabolic interplay between cytosolic phosphoenolpyruvate carboxylase and mitochondrial alternative oxidase in thermogenic skunk cabbage, *Symplocarpus renifolius*.  
*Plant Signaling & Behavior* **11** (11): e1247138.