

氏名	MD. ANAMUL HOQUE
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第3660号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Role of Proline and Glycinebetaine in Salt Tolerance in Cultured Tobacco ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.) Bright Yellow-2 Cells (タバコ培養細胞Bright Yellow-2の耐塩機構におけるプロリンとグリシンベタインの役割)
論文審査委員	准教授 村田 芳行 教授 下石 靖昭 教授 木村 吉伸

#### 学位論文内容の要旨

**Introduction:** Salt stress is one of the major environmental stresses limiting crop productivity. Salt stress induces production of reactive oxygen species and methylglyoxal that cause oxidative damage to DNA, proteins, carbohydrates and lipids. Plants accumulate proline and glycinebetaine to mitigate the damaging effects of salt stress. Plants employ antioxidant defense and glyoxalase systems. Up-regulation of the antioxidant and glyoxalase systems offered by proline and glycinebetaine protects plants against NaCl-induced oxidative damage. It is reported that proline and glycinebetaine enhance antioxidant defense and glyoxalase systems, reduce oxidative damage, and thereby improve salt tolerance in higher plants.

**Objectives:** To investigate whether proline or glycinebetaine enhances antioxidant defense and glyoxalase systems, and confers tolerance to salinity in NaCl-unadapted tobacco BY-2 suspension-cultured cells.

**Materials and methods:** NaCl-unadapted tobacco BY-2 cells cultured in the different media (standard (modified LS medium), 200 mM NaCl, 200 mM NaCl+20 mM proline, and 200 mM NaCl+20 mM betaine media) were used to investigate the role of proline and glycinebetaine in the components of antioxidant defense and glyoxalase systems under salt stress as well as to elucidate the role of proline and glycinebetaine in molecular aspects of salt tolerance.

**Results:** Both exogenous proline and glycinebetaine mitigated the inhibition of NaCl-induced growth of tobacco BY-2 cells and the mitigating effect of proline was more than that of glycinebetaine. Salt stress induced oxidation of proteins and reduction of ascorbate and glutathione, and decreased activities of enzymes involved in the antioxidant defense and glyoxalase systems except for glutathione-S-transferase and glyoxalase II. Both proline and glycinebetaine suppressed the protein oxidation induced by salt stress and alleviated the reduction in activities of enzymes involved in the antioxidant defense and glyoxalase systems under salt stress. Neither proline nor glycinebetaine had any direct protective effect on NaCl-induced enzyme activities involved in the antioxidant defense and glyoxalase systems. Furthermore, mRNA levels of *salicylic acid binding catalase*, *lignin-forming peroxidase*, *glutathione peroxidase*, *glutathione-S-transferase* and *glyoxalase I* genes were found to be increased by proline and glycinebetaine under salt stress.

**Conclusion:** Both proline and glycinebetaine confer tolerance to salinity in NaCl-unadapted tobacco BY-2 suspension-cultured cells by reducing protein oxidation and enhancement of the components of the antioxidant defense and glyoxalase systems. Further investigations are needed to verify the role of proline and glycinebetaine in physiological as well as molecular aspects of salt tolerance in higher plants.

## 論文審査結果の要旨

本論文は、高等植物の耐塩機構解明を目的として、適合溶質として知られるプロリンとグリシンベタインの耐塩機構における新規機能を明らかにしようとしたものである。

まず、活性酸素消去に関わる抗酸化酵素の活性に及ぼすプロリンとグリシンベタインの効果を調べた。そして、プロリンとグリシンベタインは、塩ストレスによるこれら酵素の活性の低下を軽減すること、また、軽減効果は、グリシンベタインに比べ、プロリンの方が大きいことを明らかにした。

次に、植物において過酸化水素消に極めて重要なアスコルビン酸-グルタチオンサイクルに及ぼすプロリンとグリシンベタインの効果を調べた。そして、プロリンとグリシンベタインは、塩ストレスによるこれら酵素の活性の低下を軽減すること、また、細胞内の酸化還元状態の維持にも寄与していることを明らかにした。

また、アルデヒドの一つであるグルオキザールの消去系に及ぼすプロリンとグリシンベタインの効果を調べた。プロリンとグリシンベタインがGlyoxalase Iの酵素活性の維持に大きく寄与していることを明らかにした。

また、プロリンとグリシンベタインは、塩ストレスによって誘導される活性酵素種産生にによって起きる脂質やタンパク質の酸化を抑制することを明らかにした。

最後に、プロリンとグリシンベタインが及ぼすこれらの酵素の遺伝子発現への影響を調べた。*SAbind* *CAT*, *lignin-forming POX*, *GPX*, *GST* and *glyoxalase I*の遺伝子発現が上昇していた。

以上の効果から、プロリンとグリシンベタインは、活性酵素消去系やグリオキザール消去系の活性化を介して、植物の耐塩性の向上に寄与していることを明らかにした。

本研究内容は、学術的な価値のみならず、実用に結びつく技術の基礎となるものである。従って、本審査委員会は本論文が博士（学術）の学位論文に値することを判断した。