

|   |   |         |          |
|---|---|---------|----------|
| 氏 名   | MST. NUR-E-NAZMUN NAHAR   |         |          |
| 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   | 5 6 2 4 | 号        |
| 学位授与の日付   | 平成29年 9月29日   |         |          |
| 学位授与の要件   | 環境生命科学研究科 農生命科学専攻<br>(学位規則第4条第1項該当)   |         |          |
| 学位論文の題目   | Role of Proline in Tobacco Cultured Cells Under Arsenate Stress<br>(ヒ酸ストレス下のタバコ培養細胞におけるプロリンの役割) |         |          |
| 論文審査委員  | 教授  | 田村 隆    | 教授 村田 芳行 |
|   | 教授  | 木村 吉伸   | 教授 中村 宜督 |
| <b>学位論文の概要</b>  |   |         |          |
| <p>Arsenic causes physiological and structural disorders in plants. Proline is accumulated as a compatible solute in plants under various stress conditions and mitigates stresses. Here I investigated the effects of exogenous proline on tobacco Bright Yellow-2 (BY-2) cultured cells under <math>AsO_4^-</math> stress. Arsenate inhibited the growth of BY-2 cells at 60 <math>\mu M</math> but not at either 40 <math>\mu M</math> or 50 <math>\mu M</math>. Proline at 0.05 mM to 10 mM did not affect the cell growth. At 60 <math>\mu M</math> <math>AsO_4^-</math>, 0.05 mM proline alleviated the <math>AsO_4^-</math>-induced cell growth inhibition but surprisingly accelerated growth inhibition by 10 mM proline. Proline at 0.05 mM decreased the Evans Blue stained cells and the total number of cells, but 10 mM proline boosted the number of stained cells and decreased the total number of cells. These results indicate that the lower concentration of proline mitigates <math>AsO_4^-</math> stress but the higher concentration sensitizes BY-2 cells to <math>AsO_4^-</math>. In the presence of <math>AsO_4^-</math>, 10 mM proline decreased both reduced and oxidized glutathione contents in BY-2 cells but not by 0.05 mM proline. Furthermore, 0.05 mM proline decreased the reduced glutathione and increased the oxidized glutathione content compared with <math>AsO_4^-</math> stress, suggesting that during mitigation process proline maintains glutathione homeostasis. Arsenate is readily reduced to arsenite through arsenate reductase using reduced glutathione as a reductant. Here, at <math>AsO_4^-</math> stress, 0.05 mM proline significantly increased the arsenate reductase activity but 10 mM proline did not. These results indicate that proline mitigates <math>AsO_4^-</math> stress by increasing the arsenate reductase activity which accelerates the conversion of arsenate to arsenite, leading detoxification of arsenite. It has been reported that exogenous arginine is degraded to proline and further catabolized following the pathway similar to proline. Here, I found that 10 mM arginine did not affect BY-2 cell growth, but enhanced the cell growth reduction by <math>AsO_4^-</math>. As arginine follows proline degradation pathway, so the effects of <math>AsO_4^-</math> in BY-2 cells in the presence of proline or arginine also same. This result strengthen the arsenite-induced enhancement of growth inhibition of BY-2 cells. Together, exogenous proline plays dynamic roles in BY-2 cells under arsenic stress, which depends on its level of concentration. The dual role of a same organic osmolyte under stress condition will open new insights for stress mitigation in plants.</p> |   |         |          |

## 論文審査結果の要旨

植物は、種々の環境ストレス下で生存している。そして、塩やカドミウムによるストレス下では、プロリンが蓄積し、抗酸化能を向上させ、ストレスを軽減していることが報告されてきている。また、プロリン施肥もストレスを軽減することが報告されてきている。しかし、ある条件下では、プロリン施肥が成長を阻害するという報告もあり、ストレス下の細胞でのプロリンの役割は明らかになっていない。

本研究は、ヒ素ストレス下のタバコ培養細胞を用いて、プロリンの役割を明らかにしようとしたものである。

初めに、成長阻害が観察されない濃度のヒ素で処理した細胞において、成長に影響のない濃度のプロリンは、相乗的に成長阻害を引き起こすことを明らかにした。

また、成長阻害が観察される濃度のヒ素で処理した細胞において、成長に影響のない濃度のプロリンは、ヒ素による成長阻害を増強することを明らかにした。

さらに、これらの成長阻害には、ヒ酸還元酵素の阻害やグルタミン酸セミアルデヒドの蓄積が関与していることを明らかにした。

以上の結果から、プロリンは、グルタミン酸セミアルデヒド蓄積を代償として、ストレス軽減のための抗酸化能の向上に貢献していることが明らかになった。

本研究内容は、学術的な価値のみならず、植物生産の化学的制御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と判断した。