

氏名	横正 健剛
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第4576号
学位授与の日付	平成24年 3月23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	植物のアルミニウム耐性に関するトランスポーター遺伝子の単離と機能解析
論文審査委員	教授 馬建鋒      教授 坂本亘      准教授 杉本学

### 学位論文内容の要旨

酸性土壌は世界の農耕地の約 3~4 割を占め、そこでの主な作物生育阻害因子はアルミニウムイオン ( $Al^{3+}$ ) 毒性である。しかし、植物の種類によって Al 耐性が大きく異なる。本研究では Al 耐性の高い植物種 (イネ, ライムギ, ソバ) を用いて、特に Al 耐性に寄与するトランスポーター遺伝子の単離と機能解析を行った。

まずはイネから MATE 型遺伝子二つ (*OsFRDL2* と *OsFRDL4*) の単離と機能解析を行った。*OsFRDL2* と *OsFRDL4* によってコードされるタンパク質はクエン酸の外向き輸送活性を示す。*OsFRDL4* は細胞膜に局在するのに対して、*OsFRDL2* は細胞内に顆粒状で存在していた。両遺伝子とも主に根で発現し、Al によって誘導された。また Al 耐性に重要な転写調節因子 ART1 によって制御されていた。*OsFRDL4* 遺伝子を破壊すると、Al によるクエン酸分泌量が大きく減少し、根の先端部に Al が多く集積し、その結果、Al 耐性も低下した。Al 耐性の異なるイネ品種において *OsFRDL4* の発現量とクエン酸分泌量及び Al 耐性の間に強い相関が認められた。これらの結果は *OsFRDL4* が根圏へクエン酸を分泌することで、イネの Al 耐性に寄与していることが示唆された。一方、*OsFRDL2* を破壊しても Al 耐性や鉄の輸送に明瞭な表現型が見られなかった。*OsFRDL1* と *OsFRDL4* の破壊株との二重破壊株の解析から、*OsFRDL2* は *OsFRDL1*, *OsFRDL4* と機能重複していた。

ライムギから二つの MATE 型遺伝子 (*ScFRDL1* と *ScFRDL2*) を単離した。*ScFRDL1* の発現は Al 処理に影響されず、鉄欠乏によって誘導された。これに対して、*ScFRDL2* の発現は鉄欠乏ではなく、Al に応答した。これらの結果は、*ScFRDL1* は根から地上部への鉄輸送に、*ScFRDL2* は Al による根圏へのクエン酸の分泌に関与していることを示唆するものである。

Al の集積植物としても知られているソバを用いて、Al に応答する EST を次世代シーケンサーで網羅的に解析し、他の植物と共通の発現遺伝子及び特異的な遺伝子が存在することが分かった。トランスポーター遺伝子の内、発現量の多い *FeIREG2* について詳しく解析した結果、主に根で発現し、鉄欠乏や他の金属に応答せず、Al によって特異的に発現が誘導された。また *FeIREG2* は細胞の液胞膜に局在していた。これらの結果、*FeIREG2* は Al を液胞に隔離するのに機能している可能性がある。

Al 耐性遺伝子の解析を通じて、植物の種類によって耐性機構が異なり、また機能相同の遺伝子でも、局在などが異なることで、違う役割を果たしていることが明らかとなった。

## 論文審査結果の要旨

本研究ではアルミニウム (Al) 耐性の高い植物種 (イネ, ライムギ, ソバ) を用いて, 特にアルミニウム耐性に寄与するトランスポーター遺伝子の単離と機能解析を行った。

まずはイネから M A T E 型遺伝子二つ (*OsFRDL2*, *OsFRDL4*) の単離と機能解析を行った。*OsFRDL2*, *OsFRDL4* によってコードされるタンパク質はクエン酸の外向き輸送活性を示す。*OsFRDL4* は細胞膜に局在するのに対して, *OsFRDL2* は細胞内に顆粒状で存在していた。両遺伝子とも主に根で発現し, Al によって誘導された。また Al 耐性に重要な転写調節因子 ART1 によって制御されていた。*OsFRDL4* 遺伝子を破壊すると, Al によるクエン酸分泌量が大きく減少し, 根の先端部に Al が多く集積し, その結果, アルミニウム耐性も低下した。アルミニウム耐性の異なるイネ品種において *OsFRDL4* の発現量とクエン酸分泌量及びアルミニウム耐性の間に強い相関が認められた。一方, *OsFRDL2* を破壊してもアルミニウム耐性に明瞭な表現型が見られなかった。

ライムギから二つの MATE 遺伝子 (*ScFRDL1* と *ScFRDL2*) を単離した。*ScFRDL1* の発現はアルミニウム処理に影響されず, 鉄欠乏によって誘導された。これに対して, *ScFRDL2* の発現は鉄欠乏ではなく, アルミニウムに応答した。これらの結果は *ScFRDL1* が根から地上部への鉄輸送に, *ScFRDL2* は Al による根圏へのクエン酸の分泌に関与していることを示唆するものである。

Al の集積植物としても知られているソバを用いて, アルミニウムに応答する EST を次世代シーケンサーで網羅的に解析し, 他の植物と共通の発現遺伝子及び特異的な遺伝子が存在することが分かった。トランスポーター遺伝子の内, 発現量の多い *FeIREG2* について詳しく解析した結果, 主に根で発現し, 鉄欠乏や他の金属に応答せず, Al によって特異的に発現が誘導された。また *FeIREG2* は細胞の液胞膜に局在していた。これらの結果, *FeIREG2* はアルミニウムを液胞に隔離するのに機能している可能性がある。

これらの成果はすでに国際誌に 2 本の論文として公表されており, 博士学位論文として十分に値すると判定した。