

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 柴 垣 奈佳子

硫黄は全ての生物に不可欠な元素の一つであり、高等植物は根で硫酸イオンの形で吸収し地上部へ移動し、硫酸は細胞に入った後、還元され種々の硫黄化合物へ同化される。硫酸イオンは、根、導管を通過して各組織に運ばれるまでの間に細胞膜を数回通らなければならない。植物細胞膜上には、プロトンと硫酸イオンの共輸送体が存在し、細胞内への硫酸を輸送すると示唆されていたが、その分子自体は明らかにされていなかった。近年、yeastの硫酸輸送系変異株を用いて、functional complementationによって *Stylosanthes hamata*、オオムギ、*Arabidopsis*などの高等植物から、多くの硫酸トランスポーター遺伝子が急速に同定されてきた。現在、全ゲノム配列が解読された *Arabidopsis thaliana*では、遺伝子配列として少なくとも11個の硫酸トランスポーター遺伝子が存在することが明らかとなっている。

本論文は、*A. thaliana*の硫酸トランスポーター遺伝子の一つ *Sultr1 ; 2*に変異を持つ変異株の解析により、高等植物の硫酸吸収、輸送における *Sultr1 ; 2*の役割を知ることを目的として行われた。序論では研究の背景と意義について、次いで研究結果と考察を述べている。

(1) 本研究の対象とする変異株を硫酸イオンのアナログ、セレン酸に耐性の変異株として単離している。約10,000個のEMS処理種子M2世代から1ライン“32-4”、約9,500のT-DNAタグラインから1ライン“1-8”、特に根の伸長においてセレン酸耐性を示す変異株を得た。³⁵S-SO₄²⁻を用いて野生型株と両変異株の硫酸吸収速度を調べたところ、変異株1-8では、硫酸イオン濃度10 μMから100 μMにかけて、前培養中の硫黄条件によらず、野生型株より低い吸収を示した。32-4変異株では、硫黄十分条件下では野生型よりも低い硫酸吸収が20 μMから100 μMで観察されたのに対し、硫黄欠乏条件におかれたときの野生型株との硫酸吸収能の差は、低い硫酸イオン濃度ではほとんど見られなかった。これらの結果から、両変異株において、硫酸輸送に関わる分子に何らかの異常がある可能性が高いと結論している。

(2) 遺伝解析により32-4変異、1-8変異ともに、セレン酸耐性は劣性の一遺伝子座に起こった変異によること、さらに、32-4変異は、一番染色体下腕のマッピングによって約400kbpの領域に存在することを示している。この領域に二つの硫酸トランスポーター遺伝子、*Sultr2 ; 2*及び *Sultr1 ; 2*が存在し、この二つの遺伝子を含む領域約12kbpの塩基配列を決定したところ、32-4変異株では *Sultr1 ; 2*をコードする遺伝子の9番目のexon中に、ミスセンス変異 (IsoleucineからThreonine) が存在し、1-8変異株においては、*Sultr1 ; 2*の翻訳開始点の440bp上流にT-DNAのLeft border配列があることを明らかにした。またノーザン解析から、1-8は *Sultr1 ; 2*の発現がなくなった変異株であった。これらの結果より、*Sultr1 ; 2*におこった変異が表現型の原因であると結論している。 *Saccharomyces cerevisiae*

の硫酸トランスポーター破壊株、CP154-7Bに、適切なベクターに組み込んだ野生型 *A. thaliana*由来の *Sultr1;2*のcDNAを導入したところ、その硫酸吸収能の回復が見られたが、32-4変異を持つ *Sultr1;2*のcDNAはCP154-7Bの硫酸吸収能を相補しなかった。

本研究は、セレン酸という毒性アナログを利用して、硫酸イオンの輸送あるいは代謝の変異株32-4と1-8を、高等植物において単離した、世界で最初の報告となった。それらの変異株の分子遺伝学的解析から、変異が硫酸トランスポーター遺伝子 *Sultr1;2*にあることを明らかとし、さらにそれら変異株をもちいて硫酸トランスポーターの硫酸吸収の生理機能を調べることができた。

以上、本論文は高等植物の硫酸トランスポーター遺伝子の突然変異体を世界で始めて単離し、硫酸トランスポーターの機能の解析に成功したものであり、学術上、応用上貢献するところがすくなくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。