

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 田中 真幸

ホウ素は植物の生育に必須な微量元素である。本論文は、シロイヌナズナにおける新たな輸送機構を明らかにすると共に、ホウ素栄養条件による制御機構についての解析を行ったものである。

本論文は序章と5つの章からなる。序章では、以下のことを中心にホウ素研究の現状を述べている。ホウ素は、細胞壁を構成するペクチン質多糖ラムノガラクトロンIIとホウ酸アニオンがエステル結合を形成し細胞壁の構造維持に重要な役割を果たしている (O' Neill et al., 2001)。ホウ素は水溶液中 (pH 7.0 前後) で主にホウ酸の形で存在する (H_3BO_3)。ホウ酸は無電化の低分子であるため膜透過性が高いことから、植物体内でのホウ酸輸送は主に受動拡散によるものだと考えられてきた。しかしながら、近年BOR 1 が同定された。BOR 1 はホウ素の濃度勾配に逆らってホウ素を輸送するホウ素排出型のトランスポーターである。(Takano et al., 2002)。さらに、NIP5;1がホウ素チャンネルであり、ホウ素欠乏下において根からのホウ素の吸収に必須であることが明らかとなった (Takano et al., 2006)。

第一章では、NIP5;1 遺伝子に最も相同性の高い遺伝子、NIP6;1 のホウ素輸送について研究を行っている。アフリカツメガエルの卵母細胞の発現系を用いてホウ酸の輸送能についての解析を行ったところ、NIP6;1 にホウ酸輸送活性が認められた。NIP6;1 はシロイヌナズナにおいて細胞膜に局在し、地上部のなかでもとくに節、葉脈に存在していた。根と地上部で mRNA が検出されたが、地上部の方が発現が強かった。また、ホウ素栄養による発現誘導は地上部で認められた。複数の独立に得られた NIP6;1 遺伝子破壊株をホウ素欠乏条件で栽培したところ、葉の一部の生育が異常になった。この異常は通常のホウ素条件で栽培した場合には見られなかった。これらのことから、NIP6;1 は NIP5;1 同様ホウ酸チャンネルであり、ホウ素欠乏条件での植物の、特に若い葉や花茎の正常な生育に必須であることを結論付けている。

第二章では NIP5;1 プロモーター内の低ホウ素応答領域 (シス配列) の同定を目的とした研究を行っている。本研究でプロモーター-deletion 解析を行った結果、1. -580/-562 領域がホウ素欠乏下における根端の発現に必須であった。2. -448/-400 領域がホウ素欠乏下における根の伸長領域の発現に必須であった。3. -400/-30 領域がホウ素欠乏下における根の成熟領域の発現に必須であった。つまり、根のある特定の部分でのホウ素に応答した発現に、NIP5;1 プロモーター内に存在する 3 つの異なる領域それぞれが独立して関与していることを明らかにしている。

第三章ではホウ素に応答した NIP5;1 の転写制御に関わる新たな遺伝子を同定するために *promoter NIP5;1-GFP* 形質転換体植物を変異原処理し、スクリーニングを行った。得られた変異株は、低ホウ素条件において根端でのみ GFP 蛍光が抑制されていた。マッピングの結果、第 5 番染色体の At5g65030.1 と At5g65140.1 の領域、約 50 kb 上に位置することがわかった。このことは、NIP5;1 のホウ素に応答した根における制御機構は少なくとも 2 つの異なるメカニズムが存在することを示唆するものである。

第四章では、NIP5;1、NIP6;1、2 つの遺伝子を破壊した遺伝子破壊株を作製し、その成長を解析した。NIP5;1、NIP6;1 遺伝子二重破壊株を低ホウ素条件下で栽培したところ、NIP5;1 遺伝子破壊株よりも生育がよく、NIP6;1 遺伝子破壊株よりも生育が悪かった。葉のホウ素濃度も植物の生育と同じ傾向を示し、この二重破壊株を低ホウ素条件下で栽培したときの葉のホウ素濃度は NIP5;1 遺伝子破壊株の葉の濃度よりも高く、NIP6;1 遺伝子破壊株の葉の濃度よりも低かった。つまり、NIP5;1 の遺伝子破壊株においては、NIP6;1 が生育抑制効果を持っていることを示した。同じ機能を持つ 2 つの遺伝子の破壊においては、一重の遺伝子の破壊よりもさらに生育が悪くなるという例は多数報告されているが、良くなるという新しい例を発見している。

第五章では *promoter NIP5;1-GFP-NIP5;1* 形質転換植物により、NIP5;1 は遠心側に局在していることを明らかにした。また、*P35S-GFP-NIP5;1* と *P35S-GFP-NIP5;1* の形質転換植物の mRNA の蓄積の比較により、NIP5;1 の地上部と根での mRNA の蓄積のパターンが異なり、根でのみ mRNA の蓄積が増加した。つまり根と葉での NIP5;1 の制御機構が異なっていることを示している。

以上、本論文は、複数の画期的な成果を含み、植物のホウ素輸送の分子機構の理解を深めるとともに、ホウ素栄養に応じた植物の反応機構について極めて高い貢献をしている。

よって、審査委員一同は、本論文を博士論文として高く価値あるものと認めた。