

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 戸松 創

モリブデン (Mo) は生物の必須元素であり、植物は Mo を含む酵素により硝酸の同化、植物ホルモンの生合成、硫黄の代謝などを行っている。植物は土壌から Mo を二価の陰イオンであるモリブデン酸 (MoO_4^{2-}) の形態で吸収すると考えられている。モリブデン酸は弱酸であり、植物の Mo 利用効率は土壌の pH に依存する。酸性土壌における Mo 欠乏は農業上の問題となっている。本論文は、モリブデン酸トランスポーターを真核生物より初めて同定したものである。

本論文は、序章に続く2つの章と結語からなる。

序章では植物のモリブデン研究の状況について述べている。

第1章では、シロイヌナズナの Col-0 と Ler 間での Mo 濃度の差を利用して、硫酸イオン輸送体類似タンパク質をコードする遺伝子 (*At2g25680*) をモリブデン濃度を決定する原因遺伝子として同定しており、この遺伝子を *MOT1* (molybdate transporter 1) と名付けている。塩基配列の比較により、Ler の *MOT1* にはアミノ酸置換を伴う1塩基の置換と翻訳開始コドン上流に53塩基の欠失があることを確認している。*MOT1* 転写産物は地上部と根で検出され、その蓄積は培地のモリブデン酸により誘導されることを示している。*MOT1* プロモーター制御下で β -glucuronidase (GUS) を発現する形質転換植物では、根の中心柱付近、ロゼット葉の葉柄、花の雄しべとがく、莢の外縁部において強い GUS シグナルが観察され、。緑色蛍光タンパク質 (GFP) と *MOT1* の融合タンパク質をカリフラワーモザイクウイルス 35SRNA プロモーター制御下で一過的に発現させたタバコ培養細胞では、細胞の外縁部と内部のにドット状に蛍光が観察された。さらに、*MOT1* の翻訳領域 (*mot1-1*) またはプロモーター領域 (*mot1-2*) に外来遺伝子が挿入された変異株では、地上部と根の Mo 濃度が野生型株の 30%以下に低下していることを示し、Mo 欠乏環境下での生育を Mo 充分環境下での生育と新鮮重で比較したところ、野生型では有意な差はなかったが、*mot1-1* 変異株と *mot1-2* 変異株ではそれぞれ 35%と 80%に低下していたことを示している。また、*MOT1* を発現させた酵母は細胞内 Mo 濃度が上昇し、そのモリブデン酸イオン輸送の K_m 値は約 20 nM であった。この輸送は硫酸イオンによる競合的な阻害を受けなかった。また、*MOT1* は硫酸イオン輸送体欠損酵母を相補しなかった。これらの結果から、*MOT1* がモリブデン酸イオン特異的な高親和型トランスポーターであることを示している。

第2章においては、*MOT1* に相同な遺伝子の解析を行っている。*At1g80310* はシロイヌナズナの遺伝子の中で *MOT1* とのアミノ酸配列の類似性が最も高い遺伝

子である(同一性 51%、類似性 82%)。この遺伝子もまたモリブデン酸イオン輸送体をコードしていると推測し、*MOT2*と名付けた。*MOT2*転写産物は地上部と根で検出され、その蓄積はモリブデン酸による誘導を受けなかった。*MOT2*プロモーター制御下でGUSを発現する形質転換植物では、根の全体、ロゼット葉の葉脈と出水器官、花の雄しべとがく、莢の外縁部においてGUSシグナルが観察された。カリフラワーモザイクウイルス35SRNAプロモーター制御下でGFPと*MOT2*の融合タンパク質を発現する形質転換植物の根では、細胞の外縁部の一部においてGFPの蛍光と細胞膜マーカーFM4-64の蛍光との共局在が観察された。*MOT2*の翻訳領域に外来遺伝子が挿入された変異株(*mot2-1*)のMo欠乏環境下での新鮮重は野生型株の40%以下に低下していた。Mo充分環境下において、*mot2-1*変異株の地上部のMo濃度は野生型株の45%以下に低下していた。一方で、*mot2-1*変異株の根のMo濃度は野生型株の約2倍に上昇していた。このとき、根における*MOT1*転写産物の蓄積量は*mot2-1*変異株と野生型株で有意な差がなかった。これらの結果を基に、*MOT2*が根から地上部へのモリブデン酸イオンの転流に関与していることを結論付けている。

以上、本論文は、真核生物のMo輸送体を初めて同定し、植物においてモリブデン酸イオン輸送が硫酸イオン輸送とは異なる輸送体によって行われる一例を示したものであり、植物の輸送研究分野に、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。