

論文審査の結果の要旨

小郷 裕子

申請者氏名

背景

鉄は全ての生物にとって必須な元素である。イネ科植物は、ムギネ酸類を合成し、根圏に分泌して鉄を吸収する。植物が鉄を吸収しにくい石灰質アルカリ土壌は世界の耕地の 25% も占め、鉄欠乏による作物の収量および質の低下が重大な農業問題になっている。また、鉄はヒトにとっても必須の栄養素であり、世界の約 20 億人が鉄欠乏性貧血に悩まされている。植物の鉄栄養制御を解明することは農業分野のみならず、ヒトの健康においても重要な研究課題である。近年、ムギネ酸類合成や鉄輸送等の植物の鉄吸収に関わる遺伝子が数多く単離され、植物の鉄吸収、利用機構が分子レベルで明らかになりつつある。これら鉄吸収に関わる遺伝子の多くは鉄欠乏によって発現が誘導され、鉄欠乏に応答するための共通の制御機構によっているものと予想される。近年、当研究室の小林らによって鉄欠乏誘導性を付与する 2 つのシスエレメント IDE1、IDE2 (Iron-deficiency-responsive element 1, 2) が同定された。本研究では、IDE1、IDE2 に結合する転写因子を探索するとともに、マイクロアレイを用いて鉄欠乏誘導性転写因子を探索するという二方向から研究を進めた。

IDE1 結合性転写因子 IDEF1 の同定

IDE1、IDE2 に結合する転写因子を探すため、まず、IDE1、IDE2 に含まれる、または IDE1、IDE2 に似た配列の既知シスエレメントを検索した。その結果、IDE1 は Sph motif/Ry element に似た配列を含んだ。Sph motif/Ry element は、ABI3/VP1 ファミリー転写因子により認識される。イネにおいては ABI3/VP1 ファミリー転写因子が 5 つ見つかри、この中の一つ、IDE1-binding factor 1 (IDEF1) と名づけたタンパク質が IDE1 に結合することがわかった。IDEF1 は、イネの根および葉に恒常的に発現していた。タバコにおいて、IDEF1 を恒常的に発現させると、IDE1 を上流に融合させたレポーター遺伝子の発現を鉄欠乏の根特異的に誘導した。IDEF1 を IDS2 プロモーターにより発現させた形質転換イネは、鉄欠乏初期において鉄欠乏耐性を示した。この形質転換イネでは鉄欠乏にすると二価鉄イオントランスポーター *OsIRT1* と、鉄欠乏誘導性 bHLH 型転写因子 *OsIRO2* の発現が、非形質転換体より高かった。このことから、IDEF1 は *OsIRT1* と *OsIRO2* の発現を制御していると考えられた。

鉄欠乏誘導性新規 bHLH 型転写因子 OsIRO2 の解析

鉄欠乏イネを用いた 22K マイクロアレイ解析により、根、茎葉ともに鉄欠乏誘導性を示す新規 bHLH 型の転写因子を発見し、*OsIRO2* と名付けた。CASTing 実験と EMSA により、*OsIRO2* の結合コア配列を決定した。*OsIRO2* 過剰発現イネは、ムギネ酸類の分泌量が増加し、*OsIRO2* 発現抑制イネは、ムギネ酸類の分泌量が少なくクロロシスになりやすかった。

これらの形質転換イネを用いた発現解析により、OsIRO2 はムギネ酸類を用いた鉄吸収に関わる遺伝子群の発現を制御していることがわかった。また、複数の鉄欠乏誘導性転写因子も OsIRO2 により制御されており、これらには OsIRO2 の DNA 結合配列を上流に持つものもあった。OsIRO2 は、IDE1 結合性転写因子 IDEF1 により制御されるので、鉄欠乏時における IDEF1 → OsIRO2 → その下流の転写因子という遺伝子発現制御ネットワークモデルが考えられる。

OsIRO2 の過剰発現は石灰質アルカリ土壌においてイネの鉄の吸収および移行を向上させる

OsIRO2 過剰発現イネは、石灰質アルカリ土壌においても非形質転換体に比べ健全に生育した。OsIRO2 過剰発現イネの収量は非形質転換体の 3-5 倍であり、玄米の鉄濃度は非形質転換体の 2 倍以上であった。本研究において、転写因子を過剰発現させ、複数の鉄吸収に関わる遺伝子の発現を強化することによって、植物に鉄欠乏耐性を付与することに成功した。さらに、OsIRO2 過剰発現イネイネは石灰質アルカリ土壌において効率的に鉄を種子へ移行しており、可食部である種子へ鉄を多く蓄積する植物の作製へ向けて重要な知見を与えた。

以上、本論文は植物の鉄欠乏応答における遺伝子発現制御ネットワークを明らかにし、転写因子の発現を増大させることによって、イネに鉄欠乏耐性を付与することに成功し、学術上、応用上貢献するところが大きく、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。