

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大西孝幸

ストレス条件下で生育できる作物品種を育成することは、農業生産において非常に重要であり、かつ早急に解決しなくてはならない問題である。本研究では、イネを用いて、ストレス応答性転写因子 *OsNAC6* に着目し、イネのストレス応答の分子機構の解明を目指した。

*OsNAC6* を含む NAC 遺伝子ファミリーは、高度に保存された NAC ドメインと呼ばれる DNA 結合ドメインを N 末側にもつ植物特異的な転写因子をコードする遺伝子ファミリーとして知られている。

植物の受けるストレスは、大きく2種類に分類することができる。一つは、非生物的ストレスで、塩・乾燥・低温・高温などのストレスがこれに含まれる。もう一つは、生物的ストレスで、害虫・細菌・ウイルス・傷害などによるストレスが含まれる。乾燥ストレスや塩ストレスなどの非生物的ストレス条件下では、植物体内で植物ホルモン ABA が蓄積し、ABA がシグナル伝達物質として植物の非生物的ストレス応答反応に重要な機能を担っている。また、生物的ストレスに対する植物のストレス応答において、植物ホルモンであるジャスモン酸 (JA) が、シグナル伝達物質として機能することが知られている。本論文では、*OsNAC6* の機能に関して概ね以下の3項目について新たな知見を得た。

### 1. イネ転写因子 *OsNAC6* のストレス応答性

所属する研究室のこれまでの実験結果から、*OsNAC6* が非生物的ストレス応答性を示すことがすでに明らかになっていた。本章では、*OsNAC6* と相同性の高い遺伝子が生物的ストレスに応答性をもつことから、*OsNAC6* の生物的ストレスに対する発現解析を行った。その結果、*OsNAC6* が生物的ストレスおよび非生物的ストレスに応答することが明らかとなった。また、タンパク質レベルでも同様のストレス応答性を示すことを確認した。*OsNAC6* のように ABA と JA という異種のストレスシグナル伝達物質に共通して応答性を示すような転写因子は、イネでは初めての報告となった。*OsNAC6* が ABA 依存的ストレス伝達経路と JA 依存的ストレス伝達経路のクロストークに関与している可能性がある。

### 2. イネのストレス応答における *OsNAC6* の機能解析

*OsNAC6* が生物的ストレスおよび非生物的ストレスに関与していることが示唆された。本章では、*OsNAC6* がさまざまなストレス応答経路においてどのような機能を担っているのかを明らかにする目的で、*OsNAC6* の発現量を変化させた形質転換イネを作成し、その

解析を試みた。その結果、*OsNAC6* を過剰発現させることで耐塩性が向上し、発現抑制によって耐塩性が低下した。このことから *OsNAC6* が塩ストレス耐性に対し重要な役割を担っていることが示唆された。また、マイクロアレイ解析によって、*OsNAC6* によって生物学的ストレス応答性遺伝子および非生物的ストレス応答性遺伝子の転写が活性化されていることが示唆された。本研究結果は、転写因子 *OsNAC6* を介して ABA 依存的ストレスシグナル伝達経路と JA 依存的ストレスシグナル伝達経路が協調的に機能していることを示唆している。

### 3. *OsNAC6* プロモーターの解析

本章では、*OsNAC6* のプロモーター領域による遺伝子発現を解析する目的で、*OsNAC6* のプロモーター領域と考えられる転写開始点より上流 1 kb の配列に注目して研究を行った。より詳細にプロモーター領域の機能を探るために、*OsNAC6* のプロモーター領域を 5' 端より欠損させた長さの異なるプロモーター配列に *GUS* ( $\beta$ -グルクロニダーゼ) レポーター遺伝子を繋いだコンストラクトを作製した。これらを導入した形質転換イネとイネ培養細胞 (OC-cell) の解析結果は、傷害処理・ABA 処理・JA 処理によるストレスシグナルがそれぞれ異なった形式で *OsNAC6* プロモーターに伝えられていることを示唆し、それぞれのストレスシグナルが *OsNAC6* に伝わるまでは独立していることを意味している。各種ストレスシグナルを受信した *OsNAC6* プロモーターは *OsNAC6* の転写を活性化することがわかっているため、独立していたストレスシグナル伝達経路が *OsNAC6* の発現の活性化という形で統合されたとと言える。

本研究を遂行する過程で *OsNAC6* を過剰発現させた形質転換イネにおいて耐乾燥性・耐塩性・耐病性が向上することが別のグループによって報告された。この結果は、*OsNAC6* が生物学的および非生物的ストレスに耐性を付与する経路で機能していることを示唆しており、本研究の結果と矛盾しない。本研究結果から、*OsNAC6* の下流のストレスシグナル経路は、生物学的および非生物的ストレスの両方に応答し、いずれの耐性にも寄与している可能性がある。

以上、本論文はイネのストレス応答性転写因子 *OsNAC6* が、生物学的ストレス、非生物的ストレスの双方に応答すること、また、これらのストレスのシグナル伝達が *OsNAC6* 遺伝子のプロモーター部分で統合されることを明らかにした。これらの知見は、学術的意義が高いばかりではなく、将来のストレス耐性作物の作出にも応用することが可能であり、将来の農業生産の効率化にも寄与するものである。よって審査員一同は、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。