

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名        寛 雄介

鉄欠乏による作物の収量や質の低下は重大な農業問題である。本論文はイネの鉄欠乏耐性を高めるための基礎研究であり、6章からなる。

第1章は序論にあたり、研究の背景と意義を述べたものである。鉄は全ての生物にとって必須な元素である。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%を占め、鉄欠乏による作物の収量や質の低下は重大な農業問題である。イネ科植物は、金属キレーターであるムギネ酸類を根圏に分泌し、可溶化された錯体の状態で鉄を吸収する。近年、ムギネ酸類生合成や根からの鉄吸収に関わる遺伝子が数多く単離され、植物の鉄吸収機構は分子レベル、遺伝子レベルで明らかになりつつある。これらの遺伝子は鉄欠乏によって発現が誘導される。その発現制御に必須な転写因子や、シスエレメントがいくつか明らかにされている。本研究では、イネが合成するムギネ酸類のデオキシムギネ酸(DMA)と、ムギネ酸類生合成の前駆体であると同時に金属の体内移行に不可欠なキレーターであるニコチアナミン(NA)に注目し、その植物体内の濃度を少量サンプルから調べられる測定法を開発する。さらに、導管を介した鉄の長距離輸送に関わるトランスポーターの機能を解析する。また、鉄欠乏応答に関わる、新たなシスエレメントを予測するメソッドを開発すると述べている。

第2章はニコチアナミン、2'-デオキシムギネ酸の超微量同時分析をしている。植物体内のNA、DMAの濃度は低く、従来の測定方法では少量の試料からの検出が難しい。本研究では、NA、DMAをFMOC-Clによって誘導体化し、LC/ESI-TOF-MSで測定することで、従来の1000倍以上の測定感度を達成した。新規定量法では必要な試料が少なく済み、遺伝子組換え植物などの解析が容易である。NA合成酵素を高発現させた遺伝子組換えイネの種子ではNA濃度、DMA濃度、鉄濃度が増加した。NAとDMAの増加により鉄の吸収量が増加し、鉄が種子へより効率的に輸送されたと考察している。この測定法によって、初めてイネ導管液中のNAが定量でき、鉄欠乏処理をしたイネ導管液中ではDMA濃度が顕著に上昇した事を示した。

第3章は新規トランスポーターPEZの解析をしている。導管液中の鉄濃度が低い変異体イネを発見し、その導管液を、第2章で開発した定量法を用いて測定した。NAとDMAの濃度には変化がなかったが、フェノール性物質のプロトカテク酸とカフェ酸の濃度が顕著に低下していた。この変異体では、機能未知のトランスポーターPEZ1の発現抑制が起こっていた。PEZ1は細胞膜に局在し、導管周辺に発現する。したがってPEZ1は、イネの導管におけるフェノール性物質のトランスポーターであり、導管を介した鉄の輸送に関わると結論づけている。

第4章は鉄錯体トランスポーターOsYSL16の解析をしている。OsYSL16の遺伝子発現解析と機能解析を行った。OsYSL16は鉄欠乏のイネの根で遺伝子発現が誘導される。OsYSL16は細胞膜に局在し、「三価鉄-DMA」錯体を輸送した。OsYSL16は根と、地上部の維管束組織で導管周辺に発現が見られた。OsYSL16発現抑制植物は鉄欠乏処理3週後に枯死した。以上のことからOsYSL16は根からの鉄の吸収とともに、導管を介した「三価鉄-DMA」の根から地上部への輸送に関わる重要なトランスポーターであると述べている。

第5章は高等真核生物における遺伝子発現制御配列の検索法を開発をしている。本研究ではこ

れまで不可能だった高等真核生物のシスエレメントを予測する新たなメソッドを開発し、MAMA(Microarray associated motif analyzer)と名付けた。このメソッドでは、配列の類似性とマイクロアレイ解析における遺伝子発現プロファイルから導くスコアを基にして、シスエレメントの予測をする。このメソッドでは鉄欠乏応答に関わる既知の配列が抽出され、同時にいくつかの新たなシスエレメントが予測された。これらの予測されたシスエレメントは、鉄欠乏応答性遺伝子上流で、強い共局在性を示した。さらに、シスエレメント間の距離が非常に高く保存されていた。以上から、予測されたシスエレメントと、そのシスエレメント同士の距離が遺伝子発現の制御に重要であることを予測している。

第6章は総合討論にあたる。イネの鉄栄養の維持のために、解析された因子が協調的に機能することを述べている。

以上、本研究はイネの鉄欠乏耐性を高めるためにいくつかの因子が協調的に機能することが重要であることを示しており、それらの因子の予測メソッドを含め、学術上、応用上、貢献することが少なくない。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があるものと認めた。