

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 齊藤 貴之

マグネシウム (Mg) は、多くの代謝反応において重要な役割を担う植物の多量必須元素である。しかも、植物葉中の Mg 濃度は種間を越えてほぼ一定であり、高度な恒常性の維持機構保存に関与する推察されるが、Mg 輸送を担う分子に関する報告は非常に少ない。

本論文では、主要作物であるイネ (*Oryza sativa* L. cv Nipponbare) を用い、Mg 輸送体である MRS2 ファミリーの遺伝子発現や輸送機能などの性質を分子生物学的手法で解析した。また、Mg 欠乏下での時間軸に沿った Mg 欠乏症の解析を行い、遺伝子レベルの Mg 欠乏応答を調べた。さらに、MRS2 のノックダウンにより生じる表現型を解析し、Mg 動態と MRS2 の生理学的な役割について考察した。

第 1 章では、ゲノムデータベースからピックアップされた 9 遺伝子 (以下、*OsMRS2*) の解析を行った。各組織の mRNA 量の定量結果から、植物体全体 (*OsMRS2-1/3/4*, locus : Os06g0650800/Os01g0908500/Os10g0545000)、根 (*OsMRS2-2/7/8*、locus : Os01g0869200/ Os03g0742400/Os04g0430900)、葯や花などの生殖器官 (*OsMRS2-5/9*, locus : Os03g0137700/Os04g0501100)、および葉身部分で発現するグループ (*OsMRS2-6*, locus : Os03g0684400) に分けられた。さらに、*OsMRS2-1/6* については日周に伴う mRNA 蓄積量の変動が確認された。葉身部分から抽出したプロトプラストを用いて細胞内局在部位を解析した結果、*OsMRS2-5/6* は葉緑体に局在するタンパク質であることが示唆された。そして Mg 輸送能欠損酵母を用いた機能相補実験により、Mg 濃度が 0.1 mM の条件では *OsMRS2-6*、1.0 mM の条件下では *OsMRS2-1/3/6/9* について Mg 輸送能が確認された。以上のことから、*OsMRS2* は植物体内の様々な器官・組織において Mg²⁺ の移行に重要な役割を果たすファミリーであることが示唆された。また、*OsMRS2-6* と *AtMRS2-11* は、日周による mRNA 蓄積量の変動、タンパク質の葉緑体局在性、高親和性輸送能など共通する特徴があり、アミノ酸配列情報による系統解析結果を踏まえ、オーソログの関係であると考えられた。以上の結果から、イネの MRS2 ファミリー 9 遺伝子を網羅的に解析し、Mg 輸送体の性質に関する知見が得られた。また、イネを扱う際の実験手法上の困難な点を改良し、新たな知見が得られた。

第 2 章では、イネの葉位に着目して Mg 欠乏症を解析した。播種後 2 週間目のイネに Mg 欠乏処理を施し、葉緑素含有量や生育量などの欠乏症の解析、Mg 再供与による回復実験、

放射性トレーサーを用いた吸収実験から、6日間の欠乏処理期間が適当であると設定し、デンプンおよび糖類の蓄積量を解析した。また、この時点での遺伝子発現のマイクロアレイ解析から、生物時計関連遺伝子などに発現量の変動が認められた。さらに *OsMRS2* ファミリーの一部に関しても、2~4倍程度の増減が確認され、植物体内の Mg 濃度制御に関与することが示唆された。以上の結果は、イネを葉位毎に分け、詳細な解析を行うことに着眼し、Mg 欠乏条件下で *MRS2* ファミリーの発現量の変動することを初めて明らかにした。

OsMRS2-6 は葉緑体局在型の高親和性 Mg 輸送体であり、Mg 欠乏条件下で発現量の減少が確認されたことから、植物体内の Mg 輸送に重要であることが推察されたが、植物体に果たす役割は不明であった。そこで第3章では、*OsMRS2-6* ノックダウン体の表現型を解析した。幼植物期の生育量および葉緑素含有量、光合成量などは野生型株と同様であったが、Mg 欠乏処理を施した際に野生型株で見られたデンプンの蓄積が確認されなかった。収穫時期の植物生育量は野生型株と同様であったが、種子の不完全米の割合が野生型株よりも3倍程度高く、収量の減少が確認された。これらのことから、*OsMRS2-6* は光合成によるデンプンの蓄積量に影響し、特に植物体の形態形成が完了した後、種子の登熟段階で光合成量に寄与する可能性が示唆された。以上の結果は、表現型が得られにくい Mg 輸送体の形質転換体で、葉緑体局在型の 1 遺伝子が作物生産性に影響する可能性を示した初めての報告である。

本論文は数少ない Mg 輸送に関する研究として学術上貢献するところが少なくない。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あるものと認めた。