

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

ウーゴ マサヨシ シモ

申請者氏名 Hugo Massayoshi Shimo

本論文は、イネのカドミウム蓄積に関与する遺伝子群を単離し、またそれらを制御する機構を明らかにすることによって、イネのカドミウム蓄積を制御し、可食部である玄米中のカドミウム低減を図ることを目的としたものである。

第1章は、序論である。カドミウムは人体に対して有害な重金属の一つであり、体内に取り込まれるとさまざまな健康被害を引き起こす。カドミウムは亜鉛や銅の採掘や精錬の過程の副産物として排水や排煙と共に、広く自然環境中に放出され拡散した。カドミウムの環境中への放出が大きな問題となったのは20世紀初期の日本であり、カドミウムに汚染された水や食品によって、イタイイタイ病が引き起こされた。現在多くの国々ではカドミウムの放出に厳しい制限をしており、また2004年のFAO/WHO食品添加物合同専門家会議ではCODEX委員会とともに食品中のカドミウムの許容量を設定し、コメでは0.4 mg/kgと決定した。日本人のカドミウム摂取量の約4割はコメに由来していることから、イネ種子へのカドミウム蓄積を減らすことが重要な課題となっている。一方、食品中の可食部分にどのようにカドミウムが蓄積されるか、その制御機構は十分明らかにされていない。そこで、本研究では食品の安全性を向上させることを目的に、イネのT-DNA挿入ライブラリーからカドミウム耐性、および蓄積に関与する遺伝子の同定とその解析を試みている。

第2章ではイネのT-DNA挿入ライブラリーからカドミウム低蓄積性のイネのスクリーニングについて述べ、第3章では得られたイネの変異株をもとに、カドミウム低蓄積性 *Low cadmium (LCD)* 遺伝子について述べている。*LCD*の機能が欠損した*lcd*変異株は成長の初期に寒天培地上および水耕栽培でカドミウム耐性を示した。水耕栽培で育成したイネの金属含量の測定の結果、野生株と比較して地上部でカドミウム含量ははるかに低いことが分かった。さらに人工的にカドミウムの低濃度汚染土壌を作って野外栽培したところ、この変異株は葉身ではカドミウム含量に大きな変化は見られなかったものの、玄米中のカドミウム含量は55%(2009年試験)、および43%(2010年試験)減少していた。一方、イネの乾物重と種子収量は変異株と野生株の間で大きな差は見られなかった。この新規遺伝子 *LCD* は既知の遺伝子とは相同性が見られず、発現したタンパク質は細胞質と核に局在して、根の維管束組織と葉の篩部の伴細胞で発現していた。以上の結果から *LCD* 遺伝子は、イネにおけるカドミウムの輸送機構の解明に有用であるとともに、*LCD* の機能が欠損したイネは汚染土壌で栽培しても、玄米中のカドミウム含量が約半分に減少することから、カドミウムによる健康被害への対策として有望なイネの品種(系統)の候補になると述べている。

第4章では、寒天培地上でカドミウム耐性を示す *mmm* 変異株に注目して、イネ体内で

恒常的に発現しているマンガンと鉄のトランスポーターである **CNP** について解析した。この変異株は体内にマンガンを少量しか蓄積せず、一方でカドミウムを多量に蓄積する。マイクロアレイ解析の結果、この変異株では **CNP** 遺伝子が大幅に抑制されており、これがカドミウム蓄積の原因となる遺伝子であると仮説を立てた。酵母を用いた金属輸送の活性測定から、**CNP** は鉄、マンガン、カドミウムのトランスポーターであることが明らかとなった。このタンパク質は細胞膜に局在し、主に根の皮層と表皮に発現していた。RNAi 法により **CNP** 遺伝子の発現抑制体を作成して解析したところ、**mmm** 変異株と同様の金属蓄積パターンが示され、前述の仮説が確認された。

第5章では、イネにおけるフェノール性酸の排出トランスポーターの同定について述べている。フェノール性酸排出トランスポーター、**PEZ2** が、イネの細胞外における鉄の可溶化に重要な役目を果たしており、**PEZ2** の欠損によりイネがカドミウムを多量に蓄積することを明らかにしている。**PEZ2** を欠損したイネ変異株は、導管液中にフェノール性酸であるプロトカテキ酸とカフェ酸が検出されないことから、**phenolics efflux zero 2(pez2)** と命名した。

第6章ではイネにおけるカドミウム耐性および蓄積に関連する新規遺伝子の同定と、その性質について解析した本研究の総括とその応用について展望を述べている。

以上、本研究はイネのカドミウム耐性および蓄積に関連する新規遺伝子を明らかにし、コメ中カドミウム含量の低減を達成したものであり、学術的な新規性のみならず、イネの栽培における土壌のカドミウム汚染に対する対策の方向性を示しているため、学術上、応用状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。