



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	窒素代謝経路の転写増加を介したSTOP1制御下の多面ストレス耐性に関する研究(内容と審査の要旨(Summary))
Author(s)	榎本, 拓央
Report No.(Doctoral Degree)	博士(農学) 甲第717号
Issue Date	2019-03-31
Type	博士論文
Version	none
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/78474

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏 名 (本 国 籍)	榎本 拓央 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第717号
学 位 授 与 年 月 日	平成31年3月31日
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	窒素代謝経路の転写増加を介した STOP1 制御下の多 面ストレス耐性に関する研究
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 山本 義 治 副査 岐阜大学 教授 小山 博 之 副査 静岡大学 教授 森 田 明 雄

論 文 の 内 容 の 要 旨

植物は様々な環境ストレス下で、代謝、イオン輸送などの細胞内のプロセスを変更して対応する。その制御で、転写制御は重要な役割を担うが、これは環境シグナルに応じて転写量やタンパク活性化などで制御される転写因子により調節されている。個々の遺伝子の発現は転写因子の組み合わせなどで決定されるが、様々なストレス下で機能し多面的な役割を担う転写因子も存在する。STOP1 (SENEITIVE TO PROTON RHIZOTOXICITY1) は、このようなマスタースイッチ転写因子の一つと考えられ、様々なストレス耐性を、他の転写因子と共同して制御する。本研究は、STOP1 転写因子の持つストレス生理学における多面的な機能と、その中で重要な役割を持つ窒素代謝経路の転写制御について解析、考察したものである。

1. STOP1 被制御低酸素耐性における窒素代謝遺伝子の役割

先行研究では、シロイヌナズナ STOP1 は根の酸耐性及びアルミニウム耐性遺伝子を転写制御することが分かっていた。この中には、低酸素耐性と関連する GABA シヤント経路の主要な酵素の遺伝子の制御も含まれていた。本研究では、*stop1* 変異体が低酸素ストレスに感受性で、その原因の一つが GABA シヤントと連動する glutamate dehydrogenase (GDH) の転写制御によることを実験的に証明した。その根拠は、1) *stop1* 変異体では、*GDH1*, *GDH2* の転写レベルが低く、2) *GDH1/2* 二重変異体は低酸素ストレス感受性 (低酸素処理 12~14 時間後の生存率と生育回復率の低下) を示すこと、及び、3) 相補試験で生育が回復することであった。この *GDH1/2* 二重変異体は、酸感受性を示すこと、さらに STOP1 はタンパク質シヤペロンの転写制御を行う *HsfA2* の転写制御によることから、細胞質酸性化防御機構の転写制御を介して、低酸素ストレス耐性を制御すると結論した。尚、この表現型は、タバコの *STOP1-RNAi* 組換え体でも同様に植物の基本的な環境耐性システムであると考えられる。これ

らの結果は、低酸素下での ATP レベルの低下で生じる H⁺-ATPase の機能低下による細胞質酸性化が、低酸素障害の一部であることの根拠を提示するものでもある。

2. アルミニウム耐性と N 代謝の関連性

シロイヌナズナのアルミニウム耐性に必須な *AtALMT1* は STOP1 制御を受け、Al により転写活性化される。近年の研究から、この ALMT1 はリンゴ酸を輸送して Al を根圏で錯体形成により無毒化する役割を担うだけでなく、GABA も輸送することが明らかとなった。そこで、Al 誘導による窒素代謝経路の修正と、ALMT1 の発現レベルとの関連性を ALMT1 過剰発現体を用いて解析した。Al 存在下の代謝経路の修正では、STOP1 制御下の *GDH* が転写制御を受けるが、*GDH1,2* 変異体はアルミニウム感受性となる。一方、Al 処理は窒素同化を担う、GS (Glutamine Synthase) や NIA (Nitrate Reductase) を転写誘導するが、これらのうち、*nia* 変異体は同様に Al 感受性を示すことを見出した。このことから、誘導的な窒素代謝経路の修正が Al 耐性を担うと結論した。一方、*AtALMT1* の過剰発現体は、*NIA* 及び *NRT* (Nitrate Transporter) の転写を向上させることが分かった。これは、個々の耐性遺伝子が相乗的な転写制御により Al 耐性を生じることを示唆するもので、*AtALMT1* 及び *STOP1* が、微量の Al 濃度で超感受性を示すこともうまく説明すると考えられた。

以上の解析から、多面ストレス耐性を制御する STOP1 が担う窒素代謝の転写レベルでの修正は、酸、アルミニウム耐性に加えて低酸素耐性に重要であると結論できる。この代謝の修正は、*AtALMT1* のリンゴ酸及び GABA 輸送活性の互換性により、重要な Al 耐性を担うリンゴ酸放出と相乗効果を示すと考えられる。

審査結果の要旨

申請者 榎本拓央は、STOP1 転写因子の制御する多面発現形質として重要な低酸素耐性の分子機構を解明した。もともとは酸性土壌耐性遺伝子の発現制御を行う転写因子として見出された STOP1 は、様々な植物種に保存される転写因子である。しかし、進化的には他の形質も制御する可能性が指摘されるものの、その具体例と分子機構は不明であった。榎本は、STOP1 変異体が低酸素処理に感受性であることを見出し、その原因がシヤペロンと低 pH 耐性遺伝子を制御する転写因子制御系及び、グルタミン酸脱水素酵素遺伝子の転写抑制によることを証明した。これは、植物の陸上適応過程で必須であった低酸素ストレス耐性と、アルミニウム耐性が共制御されることを示唆している。この博士論文では、窒素代謝経路の関与など栄養生理学的な考察を深め、新しい品種改良や施肥管理に対するアイデアも提供している。審査委員会は、上記の内容が学術的に充分であることを確認した。

基礎となる学術論文

1) 榎本 拓央、小林 佑理子、小山 博之: シロイヌナズナのアルミニウム応答する根

からのリンゴ酸放出とアミノ酸代謝の関連性に関する研究. 無菌生物, 45 巻, 2 号, 68-71, 2015.

- 2) Enomoto T., Tokizawa, M., Itoh H., Iuchi, S., Kobayashi, M., Yamamoto, Y. Y. Kobayashi, Y. and Koyama, H.: STOP1 regulates the expression of *HsfA2* and *GDH* genes critical for low-oxygen tolerance in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany, in press.

既発表論文

- 1) 小山博之, 榎本拓央, 山本義治:作物栽培における予測される問題 2.干ばつ・洪水環境下での作物の生産性. 日本土壌肥科学雑誌, 89 巻, 6 号, 475-482, 2018.