

Synthesis of boron transport systems and analysis of boron toxicity mechanisms in roots of *Arabidopsis thaliana*

その他のタイトル	シロイヌナズナの根におけるホウ素輸送の統合的理解と、過剰ホウ素による生育阻害機構の解明
学位授与年月日	2017-03-23
URL	http://doi.org/10.15083/00075798

審査の結果の要旨

氏名 反田 直之

植物の栄養輸送や応答に重要な遺伝子の同定や機能解析は重要であるが、その一方で、同定された個々の遺伝子の機能がどのように個体として統合されているかについての理解が望まれている。本博士論文は5つの章からなり、ホウ素を題材に”統合”と”分析”の2つの対極的なアプローチから研究がなされている。主に前半では、これまで主に個々のホウ素輸送体の研究がおこなわれてきた根におけるホウ素の輸送というテーマに対して、数理生物学的手法を用いてこれまでの知見を”統合”することで、これまで記述がなされてこなかった”輸送システム全体としての時空間的ふるまい”を記述している。後半では主にホウ素過剰ストレスによる根の生育阻害について、遺伝学的手法を用いた遺伝子機能の”分析”を行うことで、その発生機構の解明を行っている。

第1章では、シロイヌナズナの根を模した2次元の拡散モデルを用い、実験的に観察されるホウ素輸送体の配置から、根におけるホウ素の空間的分布の推定を行っている。その結果、ホウ素濃度は根端付近が最も高く、成熟領域にかけて低下していくことが示された。同様の分布パターンは共同研究によるレーザーアブレーション・ICP-MSによる元素分析によって実験的にも観察され、モデルの妥当性が確認された。さらに根の長軸方向に対する流束の計算を行い、根端付近で吸収されたホウ素は成熟領域へ効率的に輸送されていないことを示している。このことを根拠に、根端付近は主に根の生育に使われるためのホウ素を吸収し、成熟領域は地上部へ輸送するためのホウ素を輸送しているという、根の新しい役割分担の可能性を提唱している。

第2章では、ホウ素輸送体によるホウ素の輸送と、ホウ素による輸送体の発現制御の相互依存関係に着目し、これまで未知であった根におけるホウ素輸送システムの動態の推定を行っている。ホウ素輸送体 NIP5;1、BOR1 の発現は環境中のホウ素濃度の変化に応答して迅速に制御されることが知られていた。その制御は自然界で想定される土壤環境中のホウ素の変化速度に対して必要以上に速いように考えられたが、その意義は不明であった。本論文では、1次元の根を模した数理モデルを用い、根におけるホウ素輸送システムを微分方程式によって記述している。さらに時間微分係数を変化させることで、輸送体の発現制御速度が系の挙動に与える影響を評価している。その結果、野生型を想定したパラメータでは系は安定で、ホウ素を効率よく輸送することができるが、輸送体の制御速度を低下させると系は不安定になり、ホウ素濃度と輸送体活性の振動が生じることを見出した。この振動によって細胞内ホウ素が濃縮され、一過的に細胞毒性を示しえる高濃度を生じる一方で、輸送能力は低下することを見出している。安定度解析

によって、輸送体の制御速度が系の安定性の決定因子であることが示されている。これらの結果から、輸送体の発現制御の迅速性は、生育に不利な振動現象を防止するために重要であるという可能性が示されている。

第3章では、シロイヌナズナの根のトランスクリプトーム解析によって、ホウ素過剰が引き起こす酸化ストレスの原因となる遺伝子の探索が行われている。本論文では NADPH oxidase 活性により活性酸素種を産生する RBOH ファミリーに着目し、*RBOHC* がホウ素過剰ストレスによって発現誘導されることを発見している。*RBOHC* を欠損する変異株はホウ素過剰条件下での酸化ストレスの程度が野生型に比べて低く、さらに根の生育が野生型株よりも良いことを見出した。これらのことから、*RBOHC* を介した酸化ストレスの誘導が、ホウ素過剰ストレス下における根の生育不良の原因の一部である可能性を示している。

第4章では、26S プロテアソームの構成因子、*RPT5A* の変異株がホウ素過剰ストレス下で著しい根の伸長阻害を受けるという先行研究をさらに発展させ、*rpt5a* 変異株の抑圧変異株の解析を行っている。本論文では、26S プロテアソームの基質である転写因子 NAC103 の変異が *rpt5a* 変異株のホウ素過剰感受性を抑圧することを発見し、NAC103 がホウ素過剰条件下における活性酸素種や DNA 損傷の蓄積に関与していることを明らかにしている。これまでの知見と合わせ、26S プロテアソームによる *NAC103* の分解管理が、ホウ素過剰ストレス耐性に重要であること示している。

第5章では、根のメリステムの構造維持機構に着目し、機能未知であった遺伝子 *TPR5* の根端における役割を明らかにしている。本論文では *tpr5* 変異株は根の生育が野生型と比べて遅く、また根端メリステム細胞の秩序が乱れていることを発見した。*TPR5* は根のメリステム領域において発現していたことから、メリステムの機能維持に必要である可能性が示された。さらに *tpr5* 変異株の根端の細胞では微小核が頻りに観察されることを発見した。微小核は核分裂の欠陥によって生じることが知られており、また *tpr5* 変異株では方向が異常な細胞分裂が頻りに観察されたことから、*TPR5* が核分裂、特に細胞分裂面決定において重要な役割を持つことを示している。

以上、本論文はホウ素と植物の関係について、統合的理解と分析的理解の両面で新たな知見を見出したものであり、これらの研究成果は、学術上応用上寄与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。