

審査の結果の要旨

氏名 趙宇

本博士論文は、イネのマイルドな乾燥条件における成長抑制の分子機構を明らかにする事を目的としている。これまでに厳しい乾燥ストレスに対する植物の応答機構や耐性の獲得機構に関しては、多数の研究が報告されてきた。厳しい乾燥ストレス下では、種々の転写因子が機能する複雑なシグナル伝達機構が働き、3千以上もの耐性獲得に働く遺伝子群が誘導されることが明らかにされている。しかし、マイルドな乾燥ストレスに対する植物の応答機構は、ほとんど明らかにされていない。

本論文は6章から構成されており、第1章の序論に引き続き、第2章では実験に用いた材料と方法について述べられている。第3章、第4章および第5章では、得られた結果、図表および結果に対する考察が述べられている。これまでに土壌水分を自動的に制御する土壌マトリックポテンシャル（SMP）を基準とした灌漑システムが開発されている。このシステムを用いてマイルドな乾燥レベルでイネを生育させている。本論文で行ったマイルドな乾燥レベルは3段

階で、SMP 値として-9.8 kPa を Md1、-31.0 kPa を Md2、-309.9kPa を Md3 と表記している。遺伝子発現の変化が十分観察された Md2 および Md3 のレベルで処理したイネの幼苗から RNA を調製してマイクロアレイ解析を行っている。得られた結果から、Md2 および Md3 処理で発現が上昇するとともに、厳しい乾燥ストレス条件 (Sds: 灌水が止められイネに明瞭な萎れが観察される条件) で発現が減少する遺伝子として転写因子遺伝子 *LOC_Os01g01840* を選定した。この遺伝子がコードする転写因子は、bHLH 型の DNA 結合ドメインを有していたため、*OsbHLHa* と命名している。さらに、イネプロトプラストを用いて、*OsbHLHa* タンパク質が核内に局在することを示した。また、*GUS* レポーター遺伝子を用いて、*OsbHLHa* の組織特異的発現解析を行い、主にイネの節および葉鞘において発現していることを示している。

次に、*OsbHLHa* を植物中で過剰発現する形質転換イネおよび抑制ドメイン (RD) に融合した *OsbHLHa* を発現することで機能を抑制した形質転換イネ (RD 植物) を作出している。過剰発現イネは、対照イネと比較して成長抑制を示した。さらに、葉幅、種子の大きさ、種子の重量および数も減少していることを明らかにした。一方、RD 植物の葉幅は、対照植物に比べてより広く、有効分げつ数、種子数、総収量およびバイオマスも増加していた。これらの結果から、*OsbHLHa* は葉の成長および分げつ数の制御に関与していると結論づけてい

る。

さらに、標的遺伝子の同定を目指し、*OsbHLHa* 過剰発現体を用いてマイクロアレイ解析が行なわれた。その結果、175 個の遺伝子の発現が過剰発現体で変化することを明らかにしている。この中で、ジャスモン酸 (JA) の生合成における重要な酵素として広く認識されているリポキシゲナーゼ (LOX) 遺伝子 *OsLOX11* に注目して研究を行っている。この遺伝子は定量 PCR により Md2 および Md3 の条件下では発現が上昇したが、Sds 条件下では発現が抑制されており、*OsbHLHa* 遺伝子と同様の発現パターンを示した。また、一過的発現系により解析することで、*OsbHLHa* が転写活性化因子として機能し、*OsLOX11* の発現を活性化させることを明らかにしている。

次に、*OsLOX11* は JA 生合成経路で機能することが示されていることから、JA の関連代謝産物を含む植物ホルモン量の分析を行っている。Sds 条件下での過剰発現植物における JA-イソロイシン含量は、対照植物の含量よりも有意に高かったが、通常条件下では差異は見られなかった。これらの結果により、JA の前駆体が過剰発現植物の成長抑制に関与している可能性を提示した。

第 6 章では、総合討論および結論が述べられている。本論文では、SMP 値を基準とした灌漑システムを利用することで、Md2 や Md3 処理条件のマイルドな乾燥で誘導される *OsbHLHa* 遺伝子を選定した。さらに、形質転換体を用いた

マイクロアレイ解析及び一過的遺伝子発現系などを駆使して、OsbHLHa の標的遺伝子を同定した。OsbHLHa は *OsLOX11* 遺伝子を標的遺伝子としており、その発現を制御することにより JA の前駆体を蓄積し、マイルドな乾燥条件下での植物の成長抑制に機能している可能性がある と結論付けている。さらに、本論文では OsbHLHa を利用することでマイルドな乾燥ストレス条件下でのイネの成長抑制を改善する可能性を提示した。

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。