

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 張 麗霞

---

鉄は植物の必須元素であるが、土壌中の鉄は好氣的条件では難溶性の沈殿物として存在する。特に、世界の耕地の 30% を占める石灰質土壌はアルカリ性であるためにさらに鉄イオンになりづらく、土壌中に鉄を十分含んでいるのに、作物には十分な鉄イオンが供給されないのが現状である。根圏から鉄の供給が低下することに対応して、植物は鉄の取込みに関与する遺伝子を転写レベルで誘導させる。転写因子である IDEF1 は、イネ科植物のこの応答制御に重要な役割を担っている。本研究はイネにおけるこの転写因子 IDEF1 を介した鉄欠乏応答を制御するタンパク質を同定し、その役割を明らかにするために行なわれたもので、論文は 6 章からなる。

序論である第 1 章につづき、第 2 章では酵母のツーハイブリッド法を用いて、イネ cDNA ライブラリーから転写因子 IDEF1 を介した鉄欠乏応答制御に関与する因子のスクリーニングを行なった。その結果、 $1.9 \times 10^5$  個の組換え酵母から 17 個の陽性株が得られ、それらの部分タンパク質が IDEF1 と相互作用する事が分かった。このうち主な 3 種類の IDEF1 結合タンパク質 (IBP1, IBP2, IBP3) を得て、以降の検討の対象とした。

第 3 章では IDEF1 結合タンパク質である IBP1 についてその性質を検討した。IBP1 はボウマンバークトリプシン阻害剤と相同性のあるタンパク質として同定され、IBP1.1 と IBP1.2 に分けられた。IBP1.1 は IDEF1 との相互作用をプルダウンアッセイでも確認した。IBP1.1 と IBP1.2 の遺伝子発現は鉄欠乏に対応して誘導され、IDEF1 に依存的であった。タマネギの表皮細胞を用いた一過的発現から、IBP1.1 は細胞質と核に局在し、過剰発現させたイネの植物体では二価鉄-ニコチアナミン輸送タンパク質 OsYSL2 の遺伝子の発現を強めるものであることが分かった。他方、IDEF1 タンパク質は 26S プロテオソーム依存的に分解される事を明らかにするとともに、この分解は IBP1.1 によって妨げられることを示した。本研究による IBP1 機能のモデルでは、鉄が十分供給される条件では IDEF1 は 26S プロテオソーム依存的な経路によって活発に分解される。鉄欠乏条件下では IBP1 遺伝子の発現が IDEF1 の制御下で誘導され、増加した IBP1 タンパク質により IDEF1 の分解が回避される。そして蓄積した IDEF1 により輸送タンパク質 OsYSL2

を含む多くの下流の遺伝子群の発現を誘導できると考えられる。

第4章では *IBP2* の性質を検討した。*IBP2* は酵母のツーハイブリッド法とプルダウンアッセイにより、*IDEF1* と相互作用するペンタトリコペプチド反復配列タンパク質であると同定された。*IDEF1* と同様に、*IBP2* 遺伝子の発現は鉄欠乏で誘導されなかった。RNAi による *IBP2* 遺伝子抑制イネでは、鉄十分または欠乏のいずれの条件でも地上部では鉄が、根では亜鉛が増加する傾向にあった。さらにマイクロアレイ解析によると、鉄十分条件下の *IBP2* 遺伝子抑制イネでは、いくつかの鉄欠乏誘導性遺伝子の発現が低下した。*IDEF1* と *IBP2* の相互作用は、鉄十分でも鉄欠乏でも鉄の恒常性維持に関連するものであろうと推定された。

第5章では *IBP3* の性質を検討した。*IBP3* は重金属の輸送／解毒タンパク質のドメインを含んでおり、*IDEF1* と *IBP3* の相互作用は酵母のツーハイブリッド法とプルダウンアッセイで確認された。*IBP3* のリコンビナントタンパク質には鉄と亜鉛が結合することが示された。*IDEF1* タンパク質も N 末端領域に鉄や亜鉛が結合する金属結合ドメインを持つことから、*IBP3* と *IDEF1* の相互作用は、*IDEF1* の細胞内の鉄濃度感知に関与するものと考えられる。

第6章では本研究をまとめ、イネの鉄欠乏応答を制御する転写因子である *IDEF1* と相互作用できるタンパク質が、協同的だがそれぞれ異なった方法で働き、*IDEF1* の分解回避のように *IDEF1* を介して鉄欠乏応答に関与していることを述べて総括している。

以上、本研究はイネにおけるこの転写因子 *IDEF1* を介した鉄欠乏応答を制御するタンパク質である3種類のタンパク質を同定し、その役割を解析したもので、学術上、応用上、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。