

氏名	長山 照樹		
学位の種類	博 士 ( 学 術 )		
学位記番号	博 甲 第 10317 号		
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on the Role of Cell Walls under Aluminum Stress in Rice (イネのアルミニウムストレス下における細胞壁の機能に関する研究)		
主査	筑波大学准教授	博士 (理学)	岩井 宏暁
副査	筑波大学教授	理学博士	佐藤 忍
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	古川 純
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

## 論 文 の 要 旨

アルミニウムは地殻に最も多く含まれる金属元素である。土壌の pH がおよそ 5 を下回る環境ではアルミニウムは水溶性のアルミニウムイオンとして土壌から溶出し、植物に吸収されると成長を阻害し、根の伸長阻害や収量の低下などの原因となる。世界の潜在的に耕作可能な土地のうち 40% から 50% は酸性土壌に覆われており、アルミニウムによる成長阻害は乾燥に次いで二番目に重大な世界の作物収量低下の原因であるとされている。アルミニウムによる成長阻害はさまざまな植物種において報告されている。こういった毒性を持つアルミニウムへの耐性を持つために、根から有機酸を分泌し、それが土壌中のアルミニウムイオンとキレートと呼ばれる錯体を形成することで根への吸収を抑制するという応答が代表的な耐性機構として知られている。しかしながら、イネは有機酸の分泌とアルミニウム耐性の相関が確認されないにも関わらず、高いアルミニウム耐性を持つことが知られており、その仕組みは解明されていない。

審査対象論文で著者は、このイネのもつ高いアルミニウム耐性の機構に関する問題に、細胞壁多糖類の一種であるペクチンがもつアルミニウムとの高い親和性に着目し、ペクチンがアルミニウム毒性を緩和しているという仮説をたて、イネにおけるアルミニウム耐性と細胞壁ペクチンとの関係を明らかにすることを目的に研究を行った。

正電荷を帯びているアルミニウムイオンが主に負電荷を帯びた物質と結合する性質により、植物に吸収されたアルミニウムイオンの大部分は細胞壁領域に蓄積するとされている。細胞壁を構成する多糖はセルロース、ヘミセルロース、ペクチンに大別され、このうちヘミセルロースとペクチンに含まれるウロン酸は電離することで負電荷を帯びると考えられている。セルロース微繊維が細胞壁の主な骨格となり、ヘミセルロースがセルロース微繊維同士を架橋し、ペクチンがそれらの間を充填しているとされ、ヘミセルロースやペクチンにアルミニウムイオンが結合することで細胞壁の伸展性が損なわれることが示唆されている。本論文で著者は、このような細胞壁のアルミニウムへの結合に着目し、特にペクチンに重点を置いて実験を行った。ペクチンの含有量が野生型の 30% 以下であるペクチン分解酵素過剰発現イネ (*OsPG2-FOX*) に対してアルミニウム処理実験を行ったところ、アルミニウムストレス下での根の伸長が野生型と比較して約 50% 減少しており、アルミニウム耐性の低下が示唆された。また著者は、アルミニウム耐性が低いと報告されている ABC トランスポーター機能欠損変異体 *star* (*sensitive to Al rhizotoxicity*) *1* を用いて同様のアルミニウム処理実験を行ったところ、根の伸長が減少し以前の報告と同様の低いアルミニウム耐性が確認された。アルミニウム処理によって、野生型イネの根では、伸長領域の細胞壁へのペクチンの蓄積が促進された一方で、アルミニウム感受性の *star1* 変異体および *OsPG2-FOX* では、そのような変化が観察されなかった。エリオクロムシアニン R によるアルミニウム染色を行ったところ、野生型イネでは、

根の各組織領域へのアルミニウムの染色性がほぼ観察されなかったのに対し、*star1*変異体および*OsPG2-FOX*では、根の伸長領域に染色が見られ、アルミニウムが蓄積していることが確認された。このように著者は、根の伸長領域におけるペクチンの蓄積が見られた野生型イネではアルミニウムの蓄積がほとんどなく、そして根が伸長し、根の伸長領域におけるペクチンの蓄積が見られない*OsPG2-FOX*と*star1*変異体では、伸長領域におけるアルミニウムの蓄積が見られ、そして根の伸長阻害が見られたことから、ペクチンがアルミニウム毒性の緩和に働いていることを明らかとした。また著者は、ペクチン主鎖の重合に必須であるガラクトツロン酸転移酵素：GAUT (galacturonosyltransferase)の遺伝子について、イネ遺伝子発現データベース Rice X Pro において、根での発現量が最も高かった*Os06g49810 (OsGAUT3)*について、qRT-PCRによりアルミニウム処理での遺伝子発現レベルを測定した。その結果、アルミニウム処理区では野生型よりも*star1*で有意に低い発現量を示した。*OsPG2-FOX*については、野生型イネとの間で有意差は見られなかった。著者は、*OsPG2-FOX*において、比較的低いアルミニウム耐性にもかかわらずペクチンの合成は野生型イネと同様におこなわれている可能性が示されていることから、*star1*の根端における*OsGAUT3*の発現量の減少はアルミニウムストレスの結果ではなく、*star1*においてはペクチンの合成の抑制もアルミニウム耐性低下の原因となっている可能性を示した。

本論文で著者は、アルミニウムストレス下におかれたイネでは、根の伸長領域の細胞壁に含まれるペクチンの量の増加と分布が変化することで、ペクチンが障壁として働き、根へのアルミニウム吸着を防ぐことで、高いアルミニウム耐性を得ていることを明らかにしている。

## 審 査 の 要 旨

本論文で著者は、細胞壁のペクチンとアルミニウムとの強い結合性に着目し、イネが有する高いアルミニウム耐性には、根の伸長領域でペクチン量の制御がアルミニウムの障壁として働くという毒性緩和機構が貢献していることを明らかとした。これらの発見は、金属耐性機構に新たな概念を追加する重要な知見である。以上の成果は、当該分野の理解と発展に斬新で且つ大きな貢献を果たしており高く評価できるものである。

令和4年1月25日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。