

氏名（本籍）	松岡 啓太 （ 埼玉県 ）		
学位の種類	博 士（ 理学 ）		
学位記番号	博 甲 第 6916 号		
学位授与年月日	平成26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 Regulation of Expression of Iron-uptake-related Genes in <i>Arabidopsis</i> (シロイヌナズナにおける鉄吸収関連遺伝子の発現制御機構の解明)		
主査	筑波大学教授	理学博士	佐藤 忍
副査	筑波大学准教授（連携大学院）	博士（農学）	玉置 雅紀
副査	筑波大学助教	博士（農学）	古川 純
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	三浦 謙治

論 文 の 要 旨

鉄は生物にとって必須の微量栄養素の一つである。植物において鉄は光合成や呼吸に関わる酵素の構成要素として必要となるため、鉄が欠乏すると葉の白化を生じ、重度の場合においては枯死してしまう。モデル植物のシロイヌナズナでは *IRT1* が土壌から根への鉄の取り込みを行っており、鉄欠乏状態では *IRT1* の発現誘導により鉄の不足を補っている。鉄の栄養状態は体内と根圏でそれぞれ地上部と根で感知し両方のシグナルを統合して *IRT1* の発現が調節されているものと考えられている。シグナル伝達物質としては植物ホルモンが想定されているが、成長や発芽を促進する作用を持つジベレリン (GA) に関しては未だ *IRT1* の発現への作用は報告されていない。さらに、先行研究におけるマイクロアレイ解析から地上部の GA が根での *IRT1* の発現に関与することが示唆された。本研究では、根における *IRT1* の発現制御に地上部の GA が果たす役割を解明することを目的とした。

まず、シロイヌナズナ GA 欠損変異体の地上部に GA₄ を投与して3日目に、根における *IRT1* と *FRO2* の発現上昇が示された。また、その際、根における鉄の蓄積量が増加したこと、野生型よりも GA 欠損変異体の根における鉄の蓄積量が減少していたことから、地上部の GA は根における *IRT1* の発現上昇を介して根への鉄の取り込みを促進していることが考えられた。一方で根に直接 GA₄ を与えた場合には *IRT1* の発現上昇が生じなかったことから、GA 自身がシグナル分子として根へ移動して作用している可能性は低いと考えられた。

次に、鉄の栄養状態における GA の作用を検証した。まず、鉄欠乏応答に見られる根毛の形成について調査したところ、鉄欠乏条件下で野生型と比べて GA 欠損変異体での根毛の形成数が減少していた。続いて、鉄十分と鉄欠乏条件下における *IRT1* の発現を野生型と GA 欠損変異体間で比較した。鉄の栄養条件に関わらず、*IRT1* の発現は野生型と比べて GA 欠損変異体で減少していた。ただし、鉄欠乏条件の3日目において鉄十分条件と比較すると、地上部にお

ける活性型 GA の合成酵素と不活化酵素の発現は変化していなかったことから、活性型 GA の内生量は変化していないと推定された。以上のことから内生の GA は、鉄の存在条件に関わらず、*IRT1* の恒常的な発現に促進的に寄与しているものと考えられた。

次に、GA による *IRT1* の発現調節の仕組みについて詳しく調べるために、*IRT1* の発現制御を行っている bHLH 型転写因子の *FIT*、*bHLH038*、*bHLH039* の発現を調べた。GA 欠損変異体に対する GA₄ 投与や鉄十分条件下における野生型と GA 欠損体間での発現比較では、*IRT1* の発現が *bHLH038* と *bHLH039* の発現のパターンと類似していた。しかしながら *FIT* の発現は GA による発現の影響が見られず、*fit-2* 変異体においても GA₄ 投与による *IRT1* 発現の上昇が見られた。一方で、鉄欠乏条件下での野生型と GA 欠損体間の発現比較と *fit-2* 変異体に対する GA 生合成阻害剤の投与の結果から、鉄欠乏条件下における GA による *IRT1* の発現上昇には *FIT* が必要であることが示された。

GA は他の植物ホルモンとのクロストークがあることが知られることから、オーキシン応答遺伝子(*GH3.3*、*LBD29*)およびエチレン合成酵素遺伝子(*ACS6*)とその応答遺伝子(*ERF1*)の発現を調べたところ、鉄の栄養状態に関わらず、野生型と比べて GA 欠損変異体において減少していた。このことから、GA が *IRT1* の発現を促進するオーキシンとエチレンの量に影響を与えていることが示唆された。

本研究から、地上部の GA が根における鉄の栄養状態に関わらず、*IRT1* の発現に対して促進的に関与していることが明らかになった。また、この GA による *IRT1* の発現調節の機構は鉄の栄養状態により異なり、鉄十分条件下においては *FIT*-非依存的経路で、鉄欠乏条件下においては *FIT*-依存経路で作用していることが示唆された。また、GA の *IRT1* の発現への作用の一つの可能性として、他の植物ホルモンに影響を及ぼしていることが予想された。

審 査 の 要 旨

生物にとって必須の微量栄養素の一つである鉄の栄養状態は、地上部と根の両方で感知され、それらのシグナルが統合されて根での鉄の取り込みが調節されていると考えられている。シグナル伝達物質としては植物ホルモンが想定されているが、成長や発芽を促進する作用を持つジベレリン (GA) の鉄輸送に関わる *IRT1* の発現に対する作用は報告されていなかった。本研究は、地上部の GA が根における鉄の栄養状態に関わらず、*IRT1* の発現に対して促進的に関与していること、また、この GA による *IRT1* の発現調節の機構は鉄の栄養状態により異なり、鉄十分条件下においては *FIT*-非依存的経路で、鉄欠乏条件下においては *FIT*-依存経路で作用していることを示したものである。*IRT1* の発現への GA の作用機作に関しては今後の更なる分子的解析が待たれるものの、その一つの可能性として他の植物ホルモンに影響を及ぼしていることが予想された。これらの研究結果は、今後の植物における無機栄養素取り込みの個体レベルでの制御機構の解明に多大な貢献をすることから、その価値は非常に高い。

平成26年1月28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学力の確認を行い、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(理学)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。