

氏名（本籍）	今井 裕恵		
学位の種類	博 士（ 理学 ）		
学位記番号	博 甲 第	7340	号
学位授与年月日	平成 27 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	A Study of Natural Adaptation to Water Loss in <i>Arabidopsis thaliana</i> Accessions (シロイヌナズナ生態型間における乾燥適応に関する研究)		
主査	筑波大学准教授（連携大学院）	博士（農学）	玉置 雅紀
副査	筑波大学教授	理学博士	佐藤 忍
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	小野 道之
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	古川 純

## 論 文 の 要 旨

陸上植物にとって乾燥に対処することは、その環境に適応して生存し分布域を広げていくためにも必須の課題である。本研究は、シロイヌナズナ生態型間での乾燥耐性能力の違いについてその違いを生み出す原因遺伝子を探索し、植物の乾燥適応にどのような遺伝的要因が存在するのかを明らかにすることを目的とする。

シロイヌナズナの 41 生態型についてその乾燥耐性の違いを調べた結果、生態型間で乾燥耐性に差があることが確認された。このうち、乾燥耐性が最も弱かったシロイヌナズナ生態型 Ws-2 およびその比較対象として Col-0 を以後の実験に使用した。Col-0 と Ws-2 の乾燥耐性の差の原因となる遺伝子座を、この 2 つの生態型の掛け合わせにより作成された組換え自殖系統を用いた QTL 解析により同定したところ、第 1 染色体上に LOD Score が 3 を超えるピークが見られた。この QTL ピーク近傍のどの遺伝子が乾燥耐性の違いに関与しているのかを調べるため、既知の乾燥に関係する遺伝子と QTL 解析の結果とつぎ合わせた所、*SLAC1* (Slow Anion Channel Associated 1) 遺伝子が候補として挙げられた。*SLAC1* は気孔閉鎖に関わるアニオンチャンネルタンパクをコードする遺伝子として知られている。そこで乾燥ストレスを与えたときの気孔の応答を葉温の変化で観察した結果、Col-0 では Ws-2 に比べ素早い葉温の上昇がみられた。このことから、Col-0 及び Ws-2 の乾燥耐性の違いに関わる遺伝子は、気孔の閉鎖に関わる *SLAC1* 遺伝子であることが強く示唆された。そこで Col-0 及び Ws-2 の *SLAC1* タンパクの塩基配列解読し、アミノ酸配列を推定した所、8 番目のアミノ酸に違いが見られた。しかしながら、このアミノ酸配列の違いは *SLAC* の活性中心から大きく外れた部位に存在していたことから Col-0 と Ws-2 の乾燥耐性の違いには関与しないと結論された。

次に、Col-0 と Ws-2 の *SLAC1* 遺伝子近傍の塩基配列の解読を行ったところ、*SLAC1* 遺伝子のプロ

モーターを含む 2.9kb の領域が Ws-2 には存在しなかった。そこで Col-0 と Ws-2 の *SLAC1* プロモーターを GUS レポーター遺伝子に繋げたコンストラクトを作製しプロモーター解析を行った。その結果、Col-0 では気孔の孔辺細胞のみで、Ws-2 では葉脈において強い GUS 染色像が観察された。さらに孔辺細胞における *SLAC1* 遺伝子の発現量について定量 PCR による解析を行ったところ、Col-0 の発現量は Ws-2 に比べ 2.5 倍程度高い値が示された。

これらの実験結果から、シロイヌナズナの Col-0 と Ws-2 の乾燥耐性の差は、*SLAC1* 遺伝子のプロモーター部分の違いによるものであると推察された。すなわち、Col-0 の *SLAC1* プロモーターは Ws-2 のプロモーターよりも孔辺細胞において *SLAC1* を多く発現させることができ、結果的に Col-0 の孔辺細胞上での *SLAC1* チャンネルタンパクが多くなると予想された。このため、乾燥時において、Col-0 の方が Ws-2 よりも気孔が早く閉じ水の逸出が少なくなることから、Col-0 は Ws-2 よりも高い乾燥耐性を持つことになる結論された。

## 審 査 の 要 旨

植物における乾燥適応は、陸上への植物の分布域拡大にとって大きな課題である。これまでのモデル植物を用いた研究で「乾燥耐性」に関与する遺伝子は、突然変異体及び遺伝子組換え体の解析を通じて多数単離されている。しかしながら、これらの遺伝子が「乾燥適応」に関与するかどうかについての研究は存在しなかった。本研究では異なる乾燥耐性を示す 2 種類のシロイヌナズナ生態型 Col-0 と Ws-2 の解析を通して、気孔閉鎖に関与する *SLAC1* 遺伝子がこの植物の「乾燥適応」に関与する事を世界で初めて明らかにした。異なる乾燥耐性を示す品種間における乾燥適応遺伝子の同定はこれまでにいくつかの研究において試みられてきたが、これらの研究では遺伝子の同定には至っていない。また、本研究により同定された *SLAC1* 遺伝子は既に「乾燥耐性」遺伝子として知られていたが、「乾燥適応」遺伝子である事は本研究で初めて明らかにされた事実である。したがって、本研究で得られた知見は、シロイヌナズナの乾燥適応機構の一端を明らかにするだけでなく、陸上植物の乾燥適応研究においても適用可能であり、植物の適応過程における分子レベルでの理解に大きく寄与する研究であると評価できる。

平成 27 年 1 月 26 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（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。