

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Md. Intiaz Uddin
審査委員	<p>主査 田中 淨 (印)</p> <p>副査 山野 好章 (印)</p> <p>副査 柴田 均 (印)</p> <p>副査 滝本 晃一 (印)</p> <p>副査 辻本 壽 (印)</p>
題目	Functions of unique stress-induced genes from rice and its mechanism of salinity tolerance
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>乾燥地特にアフリカや中東アジアなどの広大な乾燥地における農業生産を向上させるためには遺伝子組換え技術を用いた乾燥・塩耐性作物の作出が重要である。私の研究室でイネを乾燥、高塩、冠水処理することにより単離された新奇の2つの冠水誘導性遺伝子 OsARP (<i>Oryza sativa</i> antiporter regulating protein)と OsMGD (<i>Oryza sativa</i> monogalactosyl diacylglycerol synthase)の機能を明らかにするために、それらの遺伝子を導入した形質転換タバコを作出し、高塩、乾燥下での形態的、生理学的、生化学的解析を試みた。</p> <p>OsARP 遺伝子はデータベースで、イネの Os02g0465900 タンパク質と特定された。OsARP タンパク質 (分子量 25kDa) は大腸菌の ChaA (2価カルシウム/プロトン陽イオントランスポータータンパク質) を制御する ChaC とホモロジーを示した。OsARP 形質転換植物は高塩ストレス下で非組換え (野生型) 植物よりもより良い成長と活力を示し、高塩や乾燥下で高い光合成活性と光化学系光量子収率を示した。OsARP タンパク質はイネの液胞膜 (トノプラスト) に局在していることがイムノゴールド電子顕微鏡で明らかになった。私たちは塩ストレス下で形質転換タバコと野生タバコの葉におけるナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、水含量を測定した。OsARP 形質転換植物の総陽イオン量と水含量は野生型よりも高かった。</p> <p>形質転換系列は野生型植物よりも葉組織において高いナトリウム含量を示した。ナトリウムの細胞質における毒性は液胞膜アンチポーター制御タンパク質による液胞への隔離により緩和されたと推定された。OsARP 形質転換植物から単離されたトノプラスト小胞はナトリウムイオン/プロトン交換速度が野生植物よりも3倍高く、このことはトノプラスト上の OsARP がナトリウムイオンの液胞への隔離に重要であることを示す。</p> <p>OsMGD タンパク質 (分子量: 39.9 kDa) はキュウリ、ホウレンソウ、シロイヌナズナの MGDG synthase と高いホモロジーを示した。OsMGD 形質転換タバコは野生型と比較して、高塩と乾燥ストレス下でより良い成長を示し、高い光合成活性、光化学系 II 光量子収率を維持した。塩ストレスの脂質組成への影響を調べるために、糖脂質と脂質リン (総リン脂質量の指標) を定量した。塩なしの初期に、OsMGD 形質転換植物は野生型よりも有意に高い MGDG、DGDG、脂質リンレベルを示した。OsMGD 形質転換植物では MGDG と DGDG 量の増加が見られたが、脂肪酸量は野生型とほぼ同一であった。この結果はイネ OsMGD</p>	

の発現はタバコにおける MGDG synthase のジアシルグリセロール前駆体の選択と次の不飽和段階に影響がないことを示す。塩ストレス時、野生型タバコで MGDG と DGDG の α -リノレン酸 (18:3) のレベルは徐々に減少したが、形質転換タバコでは減少の程度が低かった。これらの結果から OsMGD 形質転換植物が塩ストレスに対抗するために糖脂質やリン脂質組成を変えることにより、膜構造と機能の安定性を維持していることを示す。

塩耐性変異系列を選抜するために、ガンマ線照射後の米国熱帯ジャポニカ米品種 Drew からえた 400M2 ファミリーを選抜した。予備的選抜は塩を含む培地で行われ、発芽生存率から、22M2 ファミリーが 10dSm-1 (100mM 食塩) の塩ストレスに耐性を示した。最終的に 22Mz ファミリーから 4 変異系統が作物学的要因を元に塩耐性として選抜された。選抜変異系統は塩ストレス下で親イネよりも 8-9 倍の穀物生産を示し、塩ストレスなしでは親の 45-60% の穀物収量を示した。200mM 食塩下で塩耐性系統と親イネの抗酸化酵素活性が測定された。選抜した変異種で、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、グルタチオン還元酵素とスーパーオキシドジスムターゼが塩ストレス下で高い活性を示した。光酸化酵素活性の増加は塩耐性イネ変異種の塩ストレス耐性機構の一つであると結論した。

OsARP 形質転換タバコの耐塩性向上の PCP の論文は 2008 年 7 月のインターネットアクセス数のトップ 10 に入り、編集長から投稿に対する感謝文が届いた。以上のように、本研究は高度な研究内容を含み、学位論文として十分価値があると判断した。