

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲 第	号
------	---	-----	---

氏 名 丁 明

論 文 題 目

Characterization of plasma membrane H⁺-ATPase function in stomatal opening and plant growth (植物の気孔開口と成長における細胞膜 H⁺-ATPase の機能解析)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 教 授
博士(理学) 木下 俊 則
委 員 名古屋大学遺伝子実験施設 教 授 博士(農学) 多田 安 臣
委 員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 農学博士 吉岡 泰
委 員 中国南京農業大学 教授 Ph.D. Yiyong Zhu

論文審査の結果の要旨

植物の細胞膜 H^+ -ATPase は、光による気孔開口、根における養分吸収、師部積み込みなど、多くの生理現象に関することが知られている。本研究では、植物の栄養成長期と生殖成長期に出現する葉における気孔の特徴付けや植物生産量への影響について、さらに、イネの細胞膜 H^+ -ATPase を過剰発現させた時の表現型解析、加えて、気孔孔辺細胞における主要な細胞膜 H^+ -ATPase のプロモーターの *in silico* 解析による発現特性の解析とゲノム編集によるプロモーター改変を行い、発現制御を試みた。

まず、植物の栄養成長期に出現するロゼット葉と生殖成長期に出現する茎生葉における気孔の特性についてシロイヌナズナを用いて解析を行い、茎生葉の気孔では、気孔開口のキーエンザイムである細胞膜 H^+ -ATPase のタンパク質量が増加することで、気孔が 25%程度大きく開口し、光合成活性が高まっていることを明らかにした。次に、イネの生殖成長期に出現する止め葉と他の葉を比較し、止め葉の気孔コンダクタンスや光合成活性が有意に高まっていることを見出した。さらに、茎生葉や止め葉を切り取ることで植物の収量への影響を調べた結果、茎生葉や止め葉を切り取った植物では、種子の収量が 35%~50%程度に低下した。以上の結果より、植物の生殖成長期に出現する葉は、気孔の細胞膜 H^+ -ATPase 量が増加することで気孔開口が有意に促進され、光合成活性が高まり、種子収量に多大な影響を与えていることが明らかとなった。

次に、イネにおける細胞膜 H^+ -ATPase の役割を明らかにする目的で、細胞膜 H^+ -ATPase の過剰発現イネを作成し、根における養分吸収や収量への影響を調べた。その結果、過剰発現イネでは根からの水素イオン放出量が 80%程度増加しており、イネの主要な窒素栄養源であるアンモニウムなどの主要養分取り込みが有意に増加していることが明らかとなった。また、野外隔離圃場での生育試験により、過剰発現イネは野生株よりも 30%以上収量が増加すること、さらに興味深いことに、過剰発現イネでは施肥する窒素量を半分に減らしても、通常施肥量の野生株よりも有意に収量が多いことを明らかにした。

加えて、シロイヌナズナの主要な細胞膜 H^+ -ATPase である AHA2 のプロモーター領域の *in silico* 解析を行い、*cis* エレメントを明らかにするとともに、4ヶ所のガイド RNA を設計し、ゲノム編集によるプロモーター配列の改変を行った。その結果、10%程度の割合で、AHA2 のタンパク質量の増加した植物が出現し、それらは、光による気孔開口、光合成活性が上昇しており、25日齢の植物で 20%以上のバイオマス増加が見られ、最終的な種子収量としては 12%~43%の増加が見られた。以上の結果から、プロモーター領域のゲノム編集によっても発現タンパク質を増加することができ、AHA2 量の増加したゲノム編集植物では、気孔開口や光合成活性が向上し、植物のバイオマスや種子収量が増加することが明らかとなった。

以上の研究により、気孔開口や成長における植物の細胞膜 H^+ -ATPase の機能と発現制御機構が明らかとなった。これらの成果より、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。