

氏 名 (本国籍)	TANVEER TAZIB (バングラデシュ人民共和国)
主 指 導 教 員 名	岐阜大学 教授 小 山 博 之
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第539号
学 位 授 与 年 月 日	平成22年3月15日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	QTL and Association Mapping Analyses of the Root Growth of <i>Arabidopsis thaliana</i> Under Cadmium, Copper and Hydrogen-peroxide Stress (カドミウム、銅および過酸化水素存在下でのシロ イヌナズナの根伸長の QTL 及びアソシエーション マッピング解析)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 百 町 満 朗 副査 岐阜大学 教授 小 山 博 之 副査 静岡大学 教授 森 田 明 雄 副査 信州大学 教授 伴 野 潔

論 文 の 内 容 の 要 旨

重金属イオンはさまざまな機構で植物の生育を阻害する。カドミウムは摂取した場合の毒性も高く、また過剰害も発生する農業上問題がある金属である。一方、銅は循環型農業においても蓄積が懸念される金属元素である。これらの耐性機構を分子レベルで理解することは、作物の品種改良において重要な課題である。本研究は、統計遺伝学により植物の重金属耐性を吟味したものである。概要は以下の3点にまとめられる。

1) カドミウム耐性 QTL の解析

シロイヌナズナの根伸長阻害を指標として、カドミウムの障害に関する QTL 解析を行った。最も代表的な系統である Col/Ler 集団から遺伝率 0.9 を超えるデータを獲得し、同集団における遺伝構造を明らかにした。その結果、2 番及び 5 番染色体に最も効果が大きい Cd 耐性遺伝子座が存在することを見出した。この QTL は Cd 含量に差はないが、蛍光プローブを用いた活性酸素生成の観察から、 H_2O_2 の集積と関連することを突き止めた。同じ遺伝子座が、他の系統 (Col/Kas) でも検出されたことから重要な遺伝子座であると推定した。

2) 複合形質 QTL 解析

前項の仮説を遺伝学的に検証するために、ストレスの一部が活性酸素害であることが分かっている銅イオンと、活性酸素そのものである H_2O_2 を用いて QTL 解析を行った。同様

に、遺伝率が高いデータを獲得して、CIM法などで解析し、5番染色体のQTLはCol/Ler集団及びCol/Kas集団において、銅、カドミウム及びH₂O₂の全てで検出されることを明らかとした。このQTLは、Multi-traits-modeでも検出されることから、一つの遺伝子の多面発現効果を反映しているものであると結論した。

3) Association mappingによるカドミウム耐性の遺伝解析

シロイヌナズナでは、複数のアクセッションでゲノムワイドなSNP(1塩基多型)マーカー情報が整備されている。その情報を用いて、アソシエーション解析を行い、Cd耐性の種内の重要遺伝座の特定を目指した。90系統のアクセッションの解析から、重金属による根の伸長阻害とH₂O₂による阻害は、同一の遺伝子座で支配されているケースが多いことが明らかとなった。一方、イオンの移行率は伸長程度と相関がなく、全体の品種間差を決める要因となっていないことが示された。検出された遺伝子座は、既知の耐性遺伝子とはリンクせず、多様な耐性機構が存在することを遺伝学的に証明する結果となった。

以上の3点は、統計遺伝学的手法をモデル植物で展開したもので、作物への応用が期待できる基礎研究である。

審 査 結 果 の 要 旨

重金属イオンはさまざまな機構で植物の生育を阻害する。カドミウムは摂取した場合の毒性も高く、また過剰害も発生する農業上問題がある金属である。一方、銅は循環型農業においても蓄積が懸念される金属元素である。これらの耐性機構を分子レベルで理解することは、作物の品種改良において重要な課題である。これらの金属に対する耐性機構は、正・逆遺伝学において解明されつつあるが、明らかに複数の機構が関与することから、全体像を理解するためには、QTL(量的遺伝解析)などを実施することが有効であると考えられる。申請者の研究は、そのような立場から、統計遺伝学により重金属耐性を吟味した研究である。

1) カドミウム耐性 QTL の解析

シロイヌナズナの根伸長阻害を指標として、申請者はカドミウムの障害に関するQTL解析を行った。繰り返し反復により生育不良個体を取り除く方法を採用して、最も代表的な系統であるCol/Ler集団から遺伝率0.9を超えるデータを獲得した。このデータを用いてComposite Interval Mapping法とComplete Pairwise Searchにより、同集団における遺伝構造を明らかにした。その結果、2番及び5番染色体に最も効果が大きいCd耐性遺伝子座が存在することを見出した。このQTLはCd含量に差はないが、蛍光プローブを用いた活性酸素生成の観察から、H₂O₂の集積と関連することを突き止めた。同じ遺伝子座が、他の系統(Col/Kas)でも検出されたことから重要な遺伝子座であると推定した。

2) 複合形質 QTL 解析

前項の仮説を遺伝学的に検証するために、申請者はストレスの一部が活性酸素害であることが分かっている銅イオンと、活性酸素そのものであるH₂O₂を用いてQTL解析を行った。同様に、遺伝率が高いデータを獲得して、CIM法などで解析し、5番染

色体の QTL は Col/Ler 集団及び Col/Kas 集団において、銅、カドミウム及び H₂O₂ の全てで検出されることを明らかとした。この QTL は、Multi-traits-mode でも検出されることから、一つの遺伝子の多面発現効果を反映しているものであると結論した。尚、Col/Kas では同様に活性酸素を生じる、アルミニウムでも検出されることが報告されている。

3) Association mapping によるカドミウム耐性の遺伝解析

シロイヌナズナでは、複数のアクセッションでゲノムワイドな SNP (1塩基多型) マーカー情報が整備されている。その情報を用いて、アソシエーション解析を行い、Cd耐性の種内の重要遺伝座の特定を目指した。90系統のアクセッションを用いて、QTLと同様に、Cd, Cu 及び H₂O₂ 耐性を評価すると共に、Cd 及び Cu の移行率を調べた。その結果、重金属による根の伸長阻害と H₂O₂ による阻害は、同一の遺伝子座で支配されているケースが多いことが明らかとなった。一方、イオンの移行率は伸長程度と相関がなく、全体の品種間差を決める要因となっていないことが示された。検出された遺伝子座は、既知の耐性遺伝子とはリンクせず、多様な耐性機構が存在することを遺伝学的に証明する結果となった。

以上の3点は、統計遺伝学的手法をモデル植物で展開したもので、新規性・拡張性が高い研究として評価できる。このことから、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

- 1) Tazib T, Ikka T, Kuroda K, Kobayashi Y, Kimura K, and Koyama H. Quantitative traits loci controlling resistance to cadmium rhizotoxicity in two recombinant inbred populations of *Arabidopsis thaliana* are partially shared by those for hydrogen peroxide resistance. (2009) *Physiol. Plant.* 136: 395–406.
- 2) Tazib T, Kobayashi Y, Ikka T, Zhao CR, Iuchi S, Kobayashi M, Kimura K and Koyama H. Association mapping of cadmium, copper and hydrogen peroxide tolerance of roots and translocation capacities of cadmium and copper in *Arabidopsis thaliana* (2009) *Physiol. Plant.* 137: 235-248.