



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Elucidation of Aluminum Tolerance Mechanisms
in *Arabidopsis thaliana* by Genome-wide Analysis
of Expression Level Polymorphisms

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2018-11-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 楠, 和隆 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/75287

要 約	
氏 名 Name	楠 和 隆
題 目 Title of Dissertation	<u>Elucidation of Aluminum Tolerance Mechanisms in <i>Arabidopsis thaliana</i></u> <u>by Genome-wide Analysis of Expression Level Polymorphisms</u> (ゲノムワイドな遺伝子発現多型解析によるシロイヌナズナのアルミニウム耐性機構の解明)
<p>アルミニウム (Al) 毒性は、世界中に広がる酸性土壌で生息する陸上植物にとって最も過酷な非生物学的ストレスの一つである。これは、酸性状態で粘土鉱物から可溶化する Al が根の伸長を阻害し、その結果地上部の成長が阻害されるためである。植物の Al 耐性機構は、リンなどの栄養獲得機構とも共通する部分があるため、Al 耐性機構に基づく品種改良は、養分獲得能力の改善などにも寄与し、生産性の向上に大きく貢献すると考えられる。</p> <p>Al は細胞壁、細胞膜や核など、複数の細胞器官で毒性を示す。一方、植物は根分泌有機酸による Al のキレート無毒化、細胞膜の構成成分の変化による Al 吸着の抑制、液胞への Al の隔離など様々な耐性機構を発達させている。これら多様な Al ストレス応答（毒性による障害と、耐性機構発現）により、根部のトランスクリプトームは大きく変動することとなる。この Al によりもたらされる障害と、耐性機構の発現に対応する複雑な分子的機構を解明して育種や栽培技術への応用展開に利用することが望まれている。しかし、ゲノムワイドな転写変動と複雑な生物学的応答との関係を理解する方法が確立していないことや、データサイエンスの立場からの研究例が少ないことなどにより、実用化への利用には障壁が多い。</p> <p>この課題を解決するためには、ストレスに応答する遺伝子発現情報に加えて、遺伝子型の差に起因する遺伝子発現多型 (ELP) 情報を統合して解析することが有効な手法であると考えられる。北半球を中心に分布しているシロイヌナズナ野生系統には、自然変異によるゲノム配列の相違に起因するストレス耐性のバリエーションが観察される。本研究では、これら野生系統の Al ストレス下における根部トランスクリプトームデータを取得し、Al 耐性差に関与する遺伝子発現情報から Al 耐性分子機構の解明を試みた。</p> <p>1. 系統間比較トランスクリプトーム解析による Al 耐性遺伝子の同定</p> <p>Al ストレス下で ELP を示す遺伝子群を特徴付けることで、Al 耐性遺伝子を効率的に同定するために、シロイヌナズナ野生種の中から Al 耐性が異なる 6 系統（耐性 3 系統および感受性 3 系統）を選び、Al ストレスとコントロール条件のそれぞれのトランスクリプトームを RNA-Seq で取得した。</p> <p>トランスクリプトーム全体には大きな系統間差が認められ、ELP が Al ストレスに対する転写応答に大きなインパクトを与えることが示唆された。Al ストレス条件で 10,745 遺伝子、コントロール条件で 11,823 遺伝子について系統によって発現レベルの差が確認された。コントロール条件のみで発現系統間差が認められた遺伝子には成長性関連のものが多いことに対して、Al ストレス条件のみで発現系統間差が認められる遺伝子にはシグナル伝達、特にタンパク質の修飾に関連するものが多くみられた。ELP の共発現解析の結果からも、複数の転写制</p>	

御遺伝子による多数の遺伝子の協調的な発現制御が Al ストレスに対する応答に重要であることが示唆された。リンゴ酸トランスポーター遺伝子 *AtALMT1* (*ALUMINUM-ACTIVATED MALATE TRANSPORTER1*) を含む多くの既知の Al 耐性遺伝子の発現量には Al ストレスの有無に関わらず系統間差が認められ、Al 耐性遺伝子の多面的な役割が示唆された。

感受性系統と比べて耐性系統で高発現する Al 誘導性の 53 遺伝子の中から、小胞体ストレス応答性 Hsp70 をコードする *BIP3* (*BINDING PROTEIN3*)、病害抵抗性に関わる遺伝子である *TAO1* (*TARGET OF AVR B OPERATION1*)、機能未知遺伝子 (*AT5G22530*) など 5 遺伝子の破壊株が Al 感受性を示した。

これらの結果から、ELP が Al 耐性のナチュラルバリエーションの形成に影響していることが明らかになり、Al 耐性系統で高発現する Al 誘導性遺伝子から新規の耐性遺伝子を同定できることが示された。

2. 多系統共発現解析による Al 耐性に関わる ELP 形成分子機構の解明

Al 耐性のナチュラルバリエーションに寄与する ELP の原因となる因子を特定するために、遺伝子型が異なるシロイヌナズナ多数系統間における遺伝子発現の共発現関係を Al 耐性と関連付けて解析し、シスおよびトランス制御因子の検出を試みた。

本解析では、複数の分集団を含むシロイヌナズナ 28 系統から Al ストレス下における根部トランスクリプトーム情報を取得した。個々の系統間では 90%以上の遺伝子で ELP が認められ、相対根長を指標とした Al 耐性と個々の遺伝子発現の相関係数は -0.61 から 0.61 の間で分布した。*AtALMT1* を含む Al 耐性と高い正の相関をもつ遺伝子群は、Al ストレス下で系統間共発現する遺伝子が少ないことから、主にシス調節領域の変異によって ELP が生じていると考えられた。実際にこれらの遺伝子群のプロモーター上には、SNP や近傍トランスポゾンが高密度に存在しており、ELP の原因となるシス制御因子候補として選抜した。

Al 耐性に貢献する遺伝子発現ネットワークおよびそのトランス制御因子を推定するためには、遺伝子共発現ネットワーク解析 (WGCNA) を利用した。Al 耐性と正の相関をもつ共発現モジュールは、主に防御応答、細胞壁生合成、根毛分化に関わり、個別の発現量では Al 耐性と弱い正の相関を示す遺伝子によって構成されていた。これらの共発現モジュールの発現レベルはトランスの制御因子の発現または活性の高低によって多型が発生していると考えられ、その候補因子を選抜した。

さらに、系統間共発現遺伝子のプロモーター予測解析により、合計 18,688 遺伝子 98,697 箇所シス調節領域を予測した。*AtALMT1* のプロモーター上で予測した領域は、実験的に確認されたものと重複しており、一定の精度をもつと考えられた。これらのシス制御配列は既知の転写制御因子結合配列やシストロームデータベースなどとの統合解析により、ELP に影響する転写制御因子をさらに絞り込むことができた。

これらの結果から、多数系統トランスクリプトーム解析によって、シロイヌナズナの Al 耐性に関連する ELP を発生させるシスおよびトランスの要因を推定できることが示された。

以上の結果から、ELP が植物の Al 耐性に極めて大きな影響を及ぼすことが明らかになった。本研究の ELP の解析手法は、系統間にバリエーションをもつ形質について原因遺伝子およびその転写制御機構の同定に広く適用可能であると考えられる。