



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

氏 名 (本 国 籍)	楠 和隆 (三重県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 6 9 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 3 0 年 3 月 3 1 日
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	Elucidation of Aluminum Tolerance Mechanisms in <i>Arabidopsis thaliana</i> by Genome-wide Analysis of Expression Level Polymorphisms (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)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 山本 義治 副査 岐阜大学 教授 小山 博之 副査 静岡大学 教授 森田 明雄

論 文 の 内 容 の 要 旨

酸性土壌耐性を強化することは、熱帯・亜熱帯域を中心とする諸国の食料需給を安定化させるために必要な品種改良課題である。酸性土壌障害の主要因子は、土壌から可溶化するアルミニウム障害によるものである。そのため、アルミニウム耐性を強化することは、植物の酸性土壌耐性を強化するために必要であると考えられている。この論文研究では、次世代シーケンサによる系統間解析や、異なるストレスによる根での転写誘導の比較解析をモデル植物シロイヌナズナで実施し、アルミニウム耐性遺伝子の発現パターンを見出すことと、新規のアルミニウム耐性遺伝子の発見を目指した。その研究概要は、以下の3点にまとめることができる。

1. ストレス比較によるアルミニウム耐性転写制御の解析

ストレス耐性機構のうちで、転写応答は一般的に観察される事象である。そのゲノムワイドな誘導パターンを比較することは、アルミニウム耐性遺伝子の特徴を明らかにするために効果的である。この論文研究では、過去に解析されたアルミニウム、カドミウム、銅、塩による遺伝子の誘導をストレス強度を変えて解析し、その解析結果を相互比較した。

その結果、アルミニウム応答遺伝子の発現がストレス強度によらず一定であること（転写誘導システムとしてロバストであること）を見出し、その一部は、STOP1 転写因子制御によることも見出した。この結果は、アルミニウム耐性の多くが転写レベルで制御されているとする過去の研究と一致している。

2. シロイヌナズナの系統間差転写解析によるアルミニウム耐性遺伝子の特定

ストレス耐性機構では、発現レベルの違いが系統間の耐性差が生じる原因となる場合があり、実際にアルミニウム耐性遺伝子でも系統間の発現量の差が原因であることが報告されている。そこで、ここではアルミニウム耐性が異なるシロイヌナズナ系統のアルミニウム応答転写誘導を次世代シーケンサにより解析し、アルミニウム耐性と相関がある遺伝子を遺伝子破壊株を用いて解析した。この解析から、耐性系統で発現量が高く、しかもアルミニウム誘導の遺伝子の中には、アルミニウム耐性を制御する遺伝子が存在することが明らかとなった。この中には、さらに ER ストレスに関与する分子シャペロンをコードする遺伝子（BIP3）などの新規遺伝子が Al 耐性に関与することを特定した。

3. アクセション比較による転写変異機構とゲノムワイド解析からのアルミニウム耐性機構の検出

前述の解析では、アルミニウム耐性が転写的にロバスタなシステムであることと、系統間の発現量の差異（Expression Level Polymorphism）で説明できることを見出した。このうち、ELP が生じることに特に着目して、上述の 2 つの解析を SNP 情報やトランスポゾン情報などのゲノムシーケンスデータと統合解析して、系統間差が生じる機構とゲノムワイド解析から認められるアルミニウム耐性機構を明らかにした。遺伝子発現の差は、遺伝子発現を制御するプロモータ上の多型（トランスポゾンの挿入や、シスレベルでの変異）若しくは、シグナル伝達の上流の変異に基づき生じていることが想定される。共発現遺伝子ネットワークとの関連では、前者はネットワークを形成せず、後者はネットワークを形成するタイプの遺伝子と考えられる。ゲノムワイドの配列情報と系統間発現解析の統合解析は、この予想に適合するものであった。一方、変異体の比較解析では、糖新生やペントースリン酸経路のアルミニウム耐性遺伝子発現制御の関連など、新しい現象を見出すことにも成功した。

以上の研究成果はアルミニウム耐性の分子改良に新しい遺伝子素材を提供するとともに、系統間差比較におけるトランスクリプトームデータの活用方法として有効な、技術情報を提供するものである。

審 査 結 果 の 要 旨

酸性土壌耐性を強化することは、熱帯域を中心とする諸国の食料需給を安定化させるために必要な品種改良課題である。アルミニウム耐性は、転写制御される形質であり、いくつかの重要な遺伝子の同定や機能の解明は進められているが、複雑な制御の全貌を理解するためには、ゲノムワイドでの転写制御研究の進展が望まれる。本研究は、次世代シーケンサによる系統間解析や、ストレス比較解析をモデル植物シロイヌナズナで実施して、これまでに同定されていなかった新しい耐性遺伝子を同定するなど、新規性を持つ研究として評価できるものである。その概要は以下の 3 点に整理できる。

1. ストレス比較によるアルミニウム耐性転写制御の解析

ストレス耐性機構のうちで、転写応答は一般的に観察される事象である。しかし、その

誘導される遺伝子の比較や、遺伝子発現パターン全体を比較する研究は少ない。このような観点から、アルミニウム処理下の遺伝子発現と他のイオンストレスを比較して、アルミニウム応答遺伝子の発現がストレス強度によらず一定であること（システムとしてロバストであること）を見出した。さらに、その一部は、STOP1 転写因子制御によることも見出した。

2. シロイヌナズナの系統間差転写解析によるアルミニウム耐性遺伝子の特定

アルミニウム耐性がことなるシロイヌナズナアクセッションのアルミニウム応答転写誘導を RNseq により解析し、逆遺伝学と組み合わせることにより、新規のアルミニウム耐性遺伝子を同定した。従前の研究から、アルミニウム耐性には誘導される遺伝子が関与することが知られているが、耐性差の決定要因として同定された例は少ない。申請者は、この問題に対して RNAseq 解析を用いて、耐性系統で発現が高い Al 誘導遺伝子を絞り込むことに成功し、さらに *BIP3* (ER シャペロン) などの新規遺伝子が Al 耐性に関与することを特定した。

3. アクセッション比較による転写変異機構とゲノムワイド解析からのアルミニウム耐性機構の検出

上述の 2 つの解析を進展させ、アルミニウム応答転写の系統間差及び変異体間差データと、SNP 情報やトランスポゾン情報を統合解析して、系統間差が生じる機構とゲノムワイド解析から認められるアルミニウム耐性機構を明らかにした。系統間差では、プロモーター自身に変異を持つタイプとシグナル伝達経路の上流の変異に起因する現象を明確に区別した。一方、変異体の比較解析では、糖新生やペントースリン酸経路のアルミニウム耐性遺伝子発現制御の関連など、新しい現象を見出すことに成功した。

以上の研究成果は下記の基礎論文、既発表論文にまとめられている。

基礎論文

1. Kusunoki, K., Nakano, Y., Tanaka, K., Sakata, Y., Koyama, H. & Kobayashi, Y. (2017) Transcriptomic variation among six *Arabidopsis thaliana* accessions identified several novel genes controlling aluminium tolerance. *Plant Cell Environ.*, 40: 249-263
2. Kusunoki, K., Kobayashi, Y., Kobayashi, Y. & Koyama, H (2018) Comparative characterization of Al responsive transcriptome in Arabidopsis roots: Comparison with other rhizotoxic ions at different stress intensities *Soil Sci., Plant Nutr.* in press

既発表論文

1. Kobayashi, Y., Sadhukhan, A., Tazib, T., Nakano, Y., Kusunoki, K., Kamara, M., Chaffai, R., Iuchi, S., Sahoo, L., Kobayashi, M., Hoekenga, O., A., Koyama, H. (2106) Joint genetic and network analyses identify loci associated with root growth under NaCl stress in *Arabidopsis thaliana* *Plant Cell Environ.*, 39: 918-934.
2. 楠 和隆・時澤睦朋・小林安文・小林佑理子 (2016) 生物情報科学・細胞生物学的手法から見えてきた植物栄養応答 3. 大規模データが解き明かす植物の土壌ストレス耐性システム (講座) 土肥誌 87:472-478
3. Tokizawa, M., Kusunoki, K., Koyama, H., Kurotani, A., Sakurai, T., Suzuki, Y., Sakamoto, T., Kurata, T., & Yamamoto, Y. Y. (2017) Identification of Arabidopsis genic and non-genic promoters by paired-end sequencing of TSS tags *Plant J* 90:580-605
4. Yamamoto, Y. Y., Ichida, H., Hieno, A., Obata, D., Tokizawa, M., Nomoto, M., Tada, Y., Kusunoki, K., Koyama, H & Hayami Y (2017) Prediction of bipartite transcriptional regulatory elements using transcriptome data of Arabidopsis *DNA Res.* 24:271-278.

