

氏 名 (本 国 籍)	RAJ KISHAN AGRAHARI (インド)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 7 5 1 号
学 位 授 与 年 月 日	令和 2 年 9 月 3 0 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	STOP1-regulated Al-inducible Expression of <i>ALS3</i> and <i>PGIP1</i> in <i>Arabidopsis thaliana</i> ; eGWAS Approach and its Implication for Crop Biomarker (シロイヌナズナの <i>ALS3</i> と <i>PGIP1</i> の STOP1 制御の Al 誘導性発現機構 ; eGWAS アプローチと作物バイオマーカーへの応用)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 小 林 佑理子 副査 岐阜大学 教 授 小 山 博 之 副査 静岡大学 准教授 一 家 崇 志

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

酸性土壌は世界の耕作可能陸地の 40%を占める問題土壌である。この形質は、遺伝子組換えなどの分子改良が可能な形質であるとともに、乾燥耐性やリン酸欠乏耐性とクロストークすることが明らかになっている。現時点では、クロストークの分子機構を明らかにすることや、その知見を作物生産に応用することが課題である。そのような背景から、2つの観点から研究を進めた。

### 1. eGWAS による STOP1 制御を受ける *ALS3* 及び *PGIP1* の転写制御経路の解明

STOP1 転写因子は、酸性土壌耐性遺伝子群を制御するマスタースイッチである。その転写制御機構を、Expression GWAS (転写のゲノムワイド関連解析) により解析した。STOP1 転写因子は、*ALS3* (*Aluminum Sensitive 3*) 及び *PGIP1* (*Polygalacturonase Inhibitor Protein 1*) をシグナル下流で制御する。100 系統弱のシロイヌナズナアクセッションを用いて転写 eGWAS を行い、転写量多型若しくはタンパク多型を持ち、かつ逆遺伝学的解析で発現量に変化する遺伝子群を同定した。*ALS3* 制御では、フォスフォイノシチジルシグナルに付随する PhospholipaseC9/CDPK を、*PGIP1* 制御では NAC 転写因子、TRX1-superfamily protein を含むシグナル伝達経路因子の同定に成功した。これらのうち、PhospholipaseC9/CDPK は、ノックアウト体が *ALS3/PGIP1* の転写を抑制することから、STOP1 の上流の因子であると

結論した。一方、NAC/Myb は STOP1 と独立に *PGIP1* を制御する一酸化窒素経路のシグナル伝達因子であると結論した。これらの遺伝子発現は、*STOP1* 経路の基本的な転写制御構造を解明するとともに、これまで耐性機構研究と切り離された考慮されていなかった Al 応答が、地上部でも STOP1 により制御されることを示すものである。

## 2. ダイズ *ALS3* 発現のアルミニウム施肥レベルバイオマーカーへの応用

*ALS3* 及び *PGIP1* の発現は、STOP1 制御下で陸上植物に保存されていると考えられる。この発現のアルミニウム応答特異性を利用することで、土壌中の Al レベルを評価できる可能性がある。そこで、ダイズを水耕・土耕環境で栽培して、酸性土壌での石灰中和の効果を *ALS3* 及び *PGIP1* 相同遺伝子の発現量で評価した。その結果、ダイズでは石灰施肥量が不十分で、生育障害が生じる場合には、*GmALS3* の発現が誘導されるが、十分量である場合には誘導が完全に抑制され、植物側の指標として、土壌の Al 障害を評価するために有効であると結論した。一方、*PGIP1* 相同遺伝子は、カドミウムや他のストレスでも誘導がかかるため、*ALS3* よりも特異性が低いことが分かった。これは、後者が一般的なシグナル伝達経路である NO 経路にも制御されることから説明できると考えられる。この *GmALS3* の発現は、品種によらず再現され、さらにマメ科近縁植物でも活用できることを明らかにした。このことから、酸性土壌における石灰肥料の管理の適否を、植物側の応答により精密に評価するバイオマーカーとして活用できることが明らかとなり、スマート農業で用いられる画像解析分析の設計などに活用できると考えられた。

以上、本研究は、モデル植物シロイヌナズナの分子機構研究を、作物のバイオマーカー研究に展開する先駆的な研究例として、酸性土壌での作物の生産性向上に貢献する知見を提供するものである。

## 審査結果の要旨

申請者は酸性土壌耐性に必要なアルミニウムストレス誘導性の耐性遺伝子、*ALS3* 及び *PGIP1* の発現機構について研究した。まず、地上部（茎葉部）でも Al により誘導される遺伝子である、*ALS3* 及び *PGIP1* の発現量を指標とする eGWAS 解析により、NAC 転写因子を含むシグナル伝達経路因子の同定に成功した。これらの転写制御系は、アルミニウム応答の特異性を決定する因子と考えられた。一方、*ALS3* の地上部（茎葉部）での誘導発現を指標として、酸性土壌での石灰中和の効果を評価するためのバイオマーカーとしての活用を試み、ダイズで使用できることを見出した。すなわち、ダイズでは石灰施肥量が不十分で、生育障害が生じる場合には、*ALS3* の発現が誘導されるが、十分量である場合には誘導が完全に抑制され、この遺伝子発現は、スマート施肥管理における植物側の指標として有効であると結論した。以上の結果は、世界の農耕地の 4 割で問題となる酸性土壌障害に対する、耐性植物の分子改良や施肥管理の指標を提供するものとして有意義である。

基礎となる論文

1. Raj Kishan Agrahari, Prashantee Singh, Hiroyuki Koyama, Sanjib Kumar Panda (2020) Plant microbe Interactions for Sustainable Agriculture in the Post-genomic Era, *Current Genomics*,21,P.168~178
2. Raj Kishan Agrahari, Yuriko Kobayashi, Pankaj Borgohain, Sanjib Kumar Panda and Hiroyuki Koyama (2020) Aluminum-Specific Upregulation of *GmALS3* in the Shoots of Soybeans: A Potential Biomarker for Managing Soybean Production in Acidic Soil Regions, *Agronomy*,10, 1228; doi:10.3390/agronomy10091228