

氏 名	余 恩		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第	6 2 0 7	号
学位授与の日付	2 0 2 0 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文の題目	Mapping and functional characterization of two genes involved in root development of rice (イネ根の伸長に関する二つの遺伝子のマッピングと機能解析)		
論文審査委員	教授 馬 建鋒	教授 平山 隆志	准教授 山地 直樹
学位論文内容の要旨			
<p>Plant roots play important roles in structural support of above-ground parts and uptake of water and mineral nutrients from soil. Rice (<i>Oryza sativa</i>) is characterized by having a fibrous root system and distinct root anatomy, however, the molecular mechanisms underlying rice root development have not been well understood. In this study, two rice mutants (<i>dice1</i> and <i>dice2</i> for <i>defective in cell elongation 1</i> and 2) with short-root phenotype were isolated by screening of N-methyl-N-nitrosourea (MNU)-mutated seeds. Both mutants exhibited retarded root growth at both vegetative and reproductive growth stages compared with the wild-type rice (WT). Anatomical analysis showed that both the cell elongation and differentiation were altered in <i>dice1</i>; the outer cell layers were not well formed and cell identify was altered in the mutant. However, in <i>dice2</i>, only the cell elongation was significantly reduced. Map-based cloning showed that the short-root phenotype in <i>dice1</i> was caused by a single nucleotide substitution of a gene, which encodes a membrane-anchored endo-1,4-beta-glucanase (<i>OsGlu3</i>). One the other hand, the short-root phenotype in <i>dice2</i> was caused by a point-mutation of <i>OsLKRT1</i>, which is annotated to encode Lysine Ketoglutarate Reductase Trans-Splicing related 1. <i>OsLKRT1</i> was expressed in different organs through whole growth period. Furthermore, <i>OsLKRT1</i> was highly expressed in all cells of the root tip region, but only in central cylinder of mature root region. Subcellular localization analysis in rice protoplasts showed that OsLKRT1 was located at the cytosol.</p> <p>To link the altered root structure with mineral element uptake, ionome profiles were compared between two mutants and their WT grown in hydroponic solution. In <i>dice1</i>, the uptake of Mn, Cd, Ge, As was significantly decreased. The expression level of <i>OsLsi1</i> and <i>OsLsi2</i> involved in uptake of Si, Ge and As(III), <i>OsNramp5</i> involved in Cd and Mn uptake was decreased compared with the WT. Furthermore, the localization of Si transporter OsLsi1 was changed in <i>dice1</i> mutant; OsLsi1 localized at the root exodermis of the wild-type rice was changed to be localized to other cell layers of the mutant roots. On the other hand, although the concentration of most mineral elements in the shoots was lower in <i>dice2</i> mutant than in the WT, the uptake based on root dry weight did not differ between two lines, indicating that the function for mineral element uptake was not altered in <i>dice2</i> mutant.</p> <p>These results indicated that both OsGlu3 and OsLKRT1 are required for root development in different ways; OsGlu3 is involved in both cell elongation and differentiation of the roots, while OsLKRT1 is only involved in root cell elongation. Furthermore, the results revealed that a normal root structure is required for maintaining the expression and localization of transporters involved in the mineral element uptake in rice.</p>			

論文審査結果の要旨

植物の根は地上部の支持や養水分の吸収において非常に重要な器官である。イネの根は特徴的な構造と形態を示すが、その根の成長に関する分子機構はまだ完全に解明されていない。本研究では、スクリーニングにより、短い根の表現型を持つ2つのイネ変異体 (*dice1*と*dice2*) を単離した。両変異体は、野生型イネ (WT) と比較して、栄養成長期と生殖成長期の両方で根の成長の遅延を示した。根の形態を観察した結果、*dice1*では、根の外側の細胞層が十分に形成されておらず、細胞の伸長も阻害されていた。一方、*dice2*では、細胞の伸長のみが大幅に減少した。遺伝子単離を行った結果、*dice1*の原因遺伝子はmembrane-anchored endo-1,4-beta-glucanase (*OsGlu3*)をコードしており、*dice2*の原因遺伝子はLysine Ketoglutarate Reductase Trans-Splicing related 1をコードしていることを突き止めた。*OsLKRT1*は、根の先端領域のすべての細胞で高く発現し、根の伸長領域では、中心柱の部分に発現していた。また細胞内局在を調べた結果、*OsLKRT1*タンパク質は細胞質内に局在していた。根の構造の変化とミネラル元素の吸収との関連を調べるために、水耕栽培で2つの変異体とWTとの比較を行った。その結果、*dice1*では、Mn, Cd, Si, Asの吸収が大幅に減少した。また Si, Asの吸収に関与する輸送体遺伝子*OsLsi1*と*OsLsi2*, CdとMnの吸収に関与する輸送体遺伝子*OsNramp5*の発現量はWTと比較して有意に減少した。さらに野生型イネの根の外皮に局在するケイ素輸送体*OsLsi1*は、変異体の根では、他の細胞層に局在するように変化した。一方、*dice2*では、地上部のほとんどのミネラルの濃度はWTと比べ、低くなっていたが、根の乾燥重当たりの吸収量はWTとほとんど変わらなかった。これらの結果は、*OsGlu3*は細胞の伸長と根の細胞分化の両方に関与しているが、*OsLKRT1*は根の細胞の伸長のみに関与していることを示している。また根の正常な構造は根によるミネラル元素の吸収に関与する輸送体の発現と局在を維持するために、必要であることを示している。

これらの成果の一部はすでに国際誌に論文として公表されており、博士学位論文として十分に値すると判定した。