

氏名	黄 衡亮 (Hengliang HUANG)		
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	7 1 5 2	号
学位授与の日付	2 0 2 4 年 9 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	Identification of transporters involved in uptake of non-essential microelements in rice (イネにおける非必須微量元素の吸収に関するトランスポーターの同定)		
論文審査委員	教授 且原 真木	教授 馬 建鋒	准教授 三谷 奈見季
<b>学位論文内容の要旨</b>			
<p>Due to anthropogenic activities, some agricultural soil has been contaminated by non-essential microelements such as antimony (Sb) and cobalt (Co), which are usually present in trace amounts in natural soils. High concentration of these elements in soil negatively affects plant growth and human health through food chain. Rice as a staple food of half world's population, is a major dietary source of these element intake, but little is known about the molecular mechanisms underlying their uptake. In this study, I identified transporters involved in uptake of Sb and Co in rice.</p> <p>Sb is a metalloid and does not have essential or beneficial roles in plants. Physiological characterization of Sb accumulation showed that Sb(III), rather than Sb(V) is the preferential form for Sb uptake. Furthermore, most Sb is accumulated in the roots, resulting in a very low translocation of Sb from the roots to the shoots. Analysis of Sb deposition pattern in the roots showed that Sb is highly deposited at the exodermis of the roots. Sb in the root cell sap is mainly present in the form of Sb(III) after exposure to Sb(III). Since Sb shows similar chemical properties with other metalloids including silicon (Si) and arsenic (As), I investigated whether they share the same transporters for the uptake. Results showed that knockout of <i>Lsi1</i>, a gene encoding Si influx transporter significantly decreased Sb(III) uptake, whereas knockout of <i>Lsi2</i> and <i>Lsi3</i>, genes encoding Si efflux transporters did not affect Sb(III) uptake. <i>Lsi1</i> also showed transport activity for Sb(III) in the yeast. Defect of <i>Lsi1</i> enhanced tolerance to Sb toxicity due to decreased Sb(III) uptake. Collectively, these results reveal that Sb(III) is taken up by <i>Lsi1</i> localized at the root exodermis, indicating that Sb(III) shares the same transporter with Si and As(III) for entering the roots from soil. However, unlike Si and As(III), there is no efflux transporter for Sb(III), resulting in its high deposition at the exodermis.</p> <p>On the other hand, Co is not an essential element for plants, but shows beneficial effects in some legumes. The major form of Co in soil solution is Co(II). Co is highly accumulated in rice roots after exposure to Co(II) and deposited in most tissues of the roots. Analysis of various mutants defective in uptake of divalent cations showed that knockout of <i>OsNramp5</i> significantly decreased Co accumulation in the roots and shoots and enhanced the tolerance to Co toxicity. However, knockout of <i>OsIRT1</i> and <i>OsZIP9</i> did not affect Co accumulation in both the roots and shoots. <i>OsNramp5</i> is known as a Mn(II)/Cd(II) transporter, while <i>OsIRT1</i> and <i>OsZIP9</i> are transporters for Fe(II) and Zn(II), respectively. These results indicate that Co(II) shares the same transporter with Mn(II)/Cd(II) for the uptake. Heterologous expression in yeast showed that <i>OsNramp5</i> has transport activity for Co(II). Furthermore, Co(II) uptake was inhibited by either Mn(II) or Cd(II) supply due to competition for the <i>OsNramp5</i>. At the reproductive stage, the Co concentration in the straw and grain of the <i>osnramp5</i> knockout lines was decreased by 41-48% and 28-36%, respectively, compared with that of the wild-type rice. Taken together, these results indicate that <i>OsNramp5</i> is a major transporter for Co(II) uptake in rice, which ultimately mediates Co accumulation in the grains.</p>			

## 論文審査結果の要旨

植物の体内において必須ミネラル以外に、多くの非必須ミネラルが検出される。しかしこれらの非必須ミネラルの集積機構についてほとんど明らかにされていない。本研究では非必須微量元素アンチモンとコバルトに着目して、イネにおけるこれら元素の集積機構に関して生理学的及び分子生物学的な解析を行った。まずアンチモンについて調べたところ、三価のアンチモンが主な吸収形態であることを明らかにした。また吸収されたアンチモンがほとんど根の外皮細胞に蓄積していることを突き止めた。さらに根の細胞質内のアンチモンが三価の形態で存在していることを明らかにした。各種イネ変異体を用いて、アンチモンの蓄積を比較したところ、内向きケイ素輸送体として知られているLsi1が欠損すると、根及び地上部のアンチモンが大幅に低下し、外向きケイ素輸送体Lsi2とLsi3が欠損しても植物体内のアンチモンが変化しないことがわかった。またLsi1は酵母において三価のアンチモンに対して輸送活性を示した。これらの結果はLsi1が三価のアンチモンの吸収に関与する輸送体であることを示している。

一方、コバルトに関して、地上部と比べ、根において多くの蓄積が見られ、しかも根の多くの細胞に分布していた。各種金属輸送体の変異体を用いてコバルトの蓄積を比較したところ、マンガンとカドミウムの輸送体として知られているOsNramp5を破壊すると、コバルトの蓄積が大幅に減少した。しかし、鉄の輸送体OsIRT1と亜鉛の輸送体OsZIP9を破壊してもコバルトの吸収に影響を与えなかった。また酵母においてOsNramp5がコバルトに対して輸送活性を示した。さらにコバルトの吸収はマンガンやカドミウムの共存によって阻害された。生殖成長期においてOsNramp5の破壊はわら及び玄米中のコバルト濃度がそれぞれ41-48%と28-36%減少した。これらの結果は、OsNramp5がイネのコバルト吸収の主な輸送体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、博士学位の基準を満たしており、審議の結果、博士学位論文として十分に値すると判定した。