

学 位 論 文 題 名

Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) function
in plants tolerant to soils with low phosphorus and pH

(低リンと低 pH 土壌に対する植物耐性に関与する
Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) の機能)

学位論文内容の要旨

世界の耕地面積の約半分は酸性土壌で占められており、作物の生育にとって大きな問題となっている。酸性土壌では、土壌の主要成分の一つであるアルミニウム (Al) が酸性化により溶出し、これが植物根の生育を著しく阻害することが、作物生育が不良となる主因と考えられている。また、土壌中でリン (P) は、そのほとんどが各種化合物と結合して不溶化しているが、酸性土壌では特に Al や鉄と強固に結合するため、通常植物根が吸収することは困難である。一方、酸性土壌に生育する固有種の中には、このような土壌においても旺盛に生育するものもある。その適応機構の一つとして、根から分泌された有機酸により土壌中の遊離 Al を無毒化する能力と、リン酸 Al やリン酸鉄を可溶化し、リンを植物に供給する能力が考えられる。以上のように、酸性土壌では遊離 Al の毒性と無機態リンの不可給化が問題となるが、根からの有機酸分泌がこれらの問題解決の鍵を握っている。また、Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PEPC) は PEP に CO₂ を同化し、オキサロ酢酸 (OAA) と無機リン (Pi) に代謝する過程を触媒する酵素である。C₄ 型 PEPC は C₄ 光合成回路で機能するが、循環代謝系なので、有機酸や Pi のバイパスには関与しない。一方、C₃ 型 PEPC は開放系であるので OAA を生産し、有機酸代謝を活性化し、Pi のバイパス機構にも関与し、リンのリサイクルを行うことによりリン利用効率を高めていると考えられる。そこで本研究では、トウモロコシの C₄ 型 PEPC を C₃ 型イネで高発現させた遺伝子組み換え系統を用いて、PEPC による有機酸代謝の制御と、それによる植物の耐酸性や低リン耐性が改善されるかについて解析し、以下の結果を得た。

(1) 低リン耐性

1) ブラッキアリアは酸性土壌に適応した C₄ 植物 (牧草) であるが、この植物の葉では、低リン土壌で PEPC 活性が高まり、PEPC 活性の抑制率は低かった。また、リン利用効率も高く、従って、ブラッキアリアにおいては C₄ 型 PEPC のみならず C₃ 型 PEPC も葉で高発現していると推定され、今後耐酸性機構強化のために、この C₃ 型 PEPC の分子生物学的研究を進める必要があることが明ら

かとなった。ブラッキアリアは、根でも低リンで PEPC 活性が高まり、リン吸収に貢献していると考えられた。

2) C₄ 型 PEPC の構造遺伝子をイネに組み込んで高発現させた場合、葉においては低リンにより PEPC の活性が上昇することはなかった。また、植物体全体のリン利用効率は PEPC 組み替え系統において改善することはなかったことから、C₄ 型 PEPC が低リンに反応して、リンのリサイクルに貢献することは認められなかった。

3) イネの根では、低リンにより PEPC 遺伝子組換え植物で PEPC 活性が高まり、Oxalate の根からの分泌も増加し、低リン耐性が確得された。C₄ 型 PEPC は低リン含有率に反応しないことから、低リン培地で Oxalate が根から分泌され、根細胞内の Oxalate が低下し、この低下が間接的に PEPC 活性を高めるシグナルとなったと考えられる。

以上のことから、低リン耐性として、1) 根からのリンの吸収、2) 植物体内でのリンの有効利用が重要であるが、1) のためには根での PEPC 高発現が 2) のためには、葉における C₃ 型 PEPC の高発現が極めて重要であった。

(2) 低 pH 耐性・Al 耐性

1) ブラッキアリアや C₄ 型 PEPC 遺伝子組み換えイネでは、Al や低 pH に対する耐性が強かった。葉においては、高 Al あるいは低 pH により PEPC の活性が上昇することはなかった。

2) イネの根では、低 pH (あるいは高 Al) により遺伝子組換え植物での PEPC 活性が高まり、Oxalate の根からの分泌も増加し、低 pH (あるいは高 Al) 耐性が確得された。これは低リンと同様に、Oxalate の根の消費により、間接的に PEPC 活性が高まったためと考えられた。

以上のことから、Al (低 pH) 耐性は、特に根での PEPC 高発現が重要であり、高い発現ポテンシャルがあれば、Al の無毒化のために有機酸分泌のアニオンチャンネルが活性化し、根内での有機酸減少がシグナルとなって PEPC が活性化することが推定された。

以上のことより、作物の低リン耐性や低 pH (高 Al) 耐性を高めるためには、根における PEPC の高活性 (発現) が重要であり、高発現により有機酸が根から分泌され、Al イオンの無毒化と難溶性無機リンの可給化に貢献していた。しかし、PEPC の活性自体は Al イオンやリン栄養の影響を直接受けておらず、低リンや高 Al (低 pH) により有機酸分泌のアニオンチャンネルが活性化し、根内での有機酸減少がシグナルとなって PEPC が活性化することが推定された。

本研究は、低リンや酸性土壌に対する植物の耐性機構を直接解明したもので、今後植物栄養の基盤となる極めて重要な知見を得た。特に、これまで植物根より有機酸分泌能を高める研究はほとんど成功していないことから、世界的にも先端的な研究領域を切り開くことができた。

学位論文審査の要旨

主査	教授	大崎	満
副査	教授	松井	博和
副査	教授	山口	淳一
副査	助教授	信濃	卓郎

学位論文題名

Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) function in plants tolerant to soils with low phosphorus and pH

(低リンと低 pH 土壌に対する植物耐性に関与する
Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) の機能)

本研究は、図 16、表 26 を含む 138 ページの英文論文で、引用文献 187 を含み、6 章から構成されている。他に、参考論文が 1 編添えられている。

世界の耕地面積の約半分は酸性土壌で占められており、作物の生育にとって大きな問題となっている。酸性土壌では、土壌の主要成分の一つであるアルミニウム (Al) が酸性化により溶出し、これが植物根の生育を著しく阻害することが、作物生育が不良となる主因と考えられている。また、土壌中でリン (P) は、そのほとんどが各種化合物と結合して不溶化しているが、酸性土壌では特に Al や鉄と強固に結合するため、通常植物根が吸収することは困難である。以上のように、酸性土壌では遊離 Al の毒性と無機態リンの不可給化が問題となるが、根からの有機酸分泌がこれらの問題解決の鍵を握っている。有機酸合成に系に光合成産物を供給する鍵酵素として、Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PEPC) が上げられ、これは PEP に CO₂ を同化し、オキサロ酢酸 (OAA) と無機リン (Pi) に代謝する過程を触媒する酵素である。特に C₃ 型 PEPC は開放系で機能して、有機酸代謝を活性化し、Pi のバイパス機構やリサイクルに関与していると考えられている。そこで本研究では、発現が高いトウモロコシの C₄ 型 PEPC を C₃ 型イネで高発現させた遺伝子組み換え系統を用いて、PEPC による有機酸代謝の制御と、それによる植物の耐酸性や低リン耐性が改善されるかについて解析し、以下の結果を得た。

(1) 低リン耐性

1) ブラッキアリアは酸性土壌に適応した C₄ 植物 (牧草) であるが、この植物の葉では、低リン土壌で PEPC 活性が高まり、PEPC 活性の抑制率は低かった。また、リン利用効率も高く、従って、ブラッキアリアにおいては C₄ 型 PEPC のみならず C₃ 型 PEPC も葉で高発現していると推定され、今後耐酸性機構強化のために、この C₃ 型 PEPC の分子生物学的研究を進める必要があることが明らかとなった。ブラッキアリアは、根でも低リンで PEPC 活性が高まり、リン吸収に貢献していると考えられた。

2) C₄ 型 PEPC の構造遺伝子をイネに組み込んで高発現させた場合、葉においては低リンにより PEPC の活性が上昇することはなかった。また、植物体全体のリン利用効率は PEPC 組み替え系統において改善することはなかったことから、C₄ 型 PEPC が低リンに反応して、リンのリサイクルに貢献することは認められなかった。

3) イネの根では、低リンにより PEPC 遺伝子組換植物で PEPC 活性が高まり、Oxalate の根からの分泌も増加し、低リン耐性が獲得された。C₄ 型 PEPC は低リン含有率に反応しないことから、低リン培地で Oxalate が根から分泌され、根細胞内の Oxalate が低下し、この低下が間接的に PEPC 活性を高めるシグナルとなったと考えられる。

以上のことから、低リン耐性として、1) 根からのリンの吸収、2) 植物体内でのリンの有効利用が重要であるが、1) のためには根での PEPC 高発現が、2) のためには、葉における C₃ 型 PEPC の高発現が極めて重要であった。

(2) 低 pH 耐性・Al 耐性

1) ブラッキアリアや C₄ 型 PEPC 遺伝子組み換えイネでは、Al や低 pH に対する耐性が強かった。葉においては、高 Al あるいは低 pH により PEPC の活性が上昇することはなかった。

2) イネの根では、低 pH (あるいは高 Al) により遺伝子組換植物での PEPC 活性が高まり、Oxalate の根からの分泌も増加し、低 pH (あるいは高 Al) 耐性が獲得された。これは低リンと同様に、Oxalate の根の消費により、間接的に PEPC 活性が高まったためと考えられた。

以上のことから、Al (低 pH) 耐性は、特に根での PEPC 高発現が重要であり、高い発現ポテンシャルがあれば、Al の無毒化のために有機酸分泌のアニオンチャンネルが活性化し、根内の有機酸減少がシグナルとなって PEPC が活性化することが推定された。

以上の研究は、低リンや酸性土壌に対する植物の耐性機構を直接解明したもので、今後植物栄養の基盤となる極めて重要な知見を得ている。特に、これまで植物根より有機酸分泌能を高める研究はほとんど成功していないことから、世界的にも先端的な研究領域を切り開くことができたと評価される。よって審査員一同は、Hasna Hena Begum（ハスナ・ヘナ・ベグム）が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。