

氏名	MUHAMMAD SAMEEULLAH
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4863号
学位授与の日付	平成25年9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	A study of functions of plasma-membrane localized sucrose transporter in plant cells under growth and aluminum stress conditions (増殖およびアルミニウムストレス下の植物細胞における細胞膜局在型スクロース輸送体の機能に関する研究)
論文審査委員	教授 山本 洋子 教授 馬 建鋒 教授 Ivan Galis

### 学位論文内容の要旨

The role of plasma membrane-localized sucrose transporter (NtSUT1) in growth capacity was investigated using cultured tobacco cell line BY-2. BY-2 cells (wild-type, WT) were transformed with the *NtSUT1* gene or its fragments cloned from tobacco cell line SL to form the over-expression (OX) and suppression (RNAi) cell lines under the control of cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter, respectively. Using the WT, OX and RNAi transgenics, the role of NtSUT1 in growth capacity of actively growing cells and in aluminum (Al)-treated cells was examined.

During the logarithmic phase of growth in nutrient medium containing 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), both the rate of sucrose uptake measured with radio-tracer and the content of soluble sugar were higher in OX and lower in RNAi cell lines compared to WT. Overall, the content of soluble sugars negatively correlated with the time necessary for doubling mass (fresh weight). When cells were treated without (control) or with Al in a simple medium containing calcium, sucrose and MES (pH 5.0) for up to 18 h, the expression of *NtSUT1* under its native promoter, or under the control of strong constitutive CaMV 35S promoter, was strongly dependent on the presence of 2,4-D. Thereafter, the cells were preferentially treated in the presence of 2,4-D. During 6 h after a start of the control treatment, sucrose uptake rates were, compared to WT, slightly higher and lower in OX and RNAi lines respectively. The addition of Al reduced the sucrose uptake rates of OX and WT to the level of RNAi line, indicating that Al inhibits sucrose uptake via NtSUT1. During the post-Al culture of control and Al-treated cells in nutrient medium, sucrose uptake rates were much higher in OX compared to WT and RNAi lines, which were closely and positively correlated with the growth capacity in these cell lines. Judging from the growth capacity of Al-treated cells relative to that of control cells, OX cells were more tolerant to Al than WT and RNAi. Taken together, we conclude that over-expression of *NtSUT1* confers higher growth capacity in actively growing cells as well as in Al-treated cells.

The OX and RNAi transformants of the *NtSUT1* were also constructed in a whole plant system of tobacco (cv. Samsun). Using the seedlings of WT and these transformants, the role of the *NtSUT1* in root growth under Al stress should be elucidated.

## 論文審査結果の要旨

作物の生育が抑制される問題土壌の一つに酸性土壌がある。日本の農耕地にも、火山灰性の酸性土壌が広く分布しているが、世界的にも熱帯・亜熱帯地域に強い酸性土壌が広がっている。酸性土壌における生育阻害の主要因子の一つは、アルミニウム (Al) イオンであるが、Alイオンが誘発する細胞伸張阻害や細胞死の機構は、まだ十分に解明されていない。本研究では、Alイオンによる細胞障害の分子機構を解明する目的で、特に原形質膜に局在するスクロース輸送体 (SUT1) に着目した解析を行った。材料として、タバコ培養細胞株SLよりクローニングした*SUT1* 遺伝子をタバコ培養細胞株BY-2に導入し、得られた過剰発現系統 (OX系統) ならびに抑制系統 (RNAi系統) と野生系統 (BY-2) の3系統で増殖速度やAl応答反応を比較した。得られた結果は次の通りである。

対数増殖期の細胞において、*SUT1* 遺伝子の高発現系では、スクロースの取り込み速度が増加し、その結果、細胞内の遊離糖含量が増加し、増殖速度も増加すると考えられる。*SUT1* 遺伝子の発現は、*SUT1* 遺伝子自体のプロモーターの場合も、また、カリフラワーモザイクウイルスの 35Sプロモーターの場合も、ともにオーキシン (2, 4-D) に強く依存していた。そこで、2, 4-Dを添加して、*SUT1* 遺伝子の発現や機能を見たところ、Alイオンで*SUT1* 遺伝子の発現が抑制され、さらに、*SUT1* 輸送体の活性自体も抑制されることが分かった。一方、Al処理後の増殖において、過剰発現系統は、野生系統やRNAi系統よりはるかに高い増殖能を示したことからAl耐性を獲得していることが分かった。過剰発現系統では、Al処理期間中に*NiSUT1* 転写物が野生系統の数倍蓄積しており、それが、Al処理後の高い増殖能を保障している可能性がある。申請者は、タバコ植物体の過剰発現系統と抑制系統も作出しており、抑制系統がAlによる根伸張阻害を強く受けることを示した。非常に興味深い結果であり、植物体を用いた*NiSUT1* 遺伝子のさらなる機能解析が望まれる。

以上、スクロース輸送体は、根のような非光合成器官へ糖を供給する重要な輸送体であり、Alによる阻害効果を生理学的・分子遺伝学的に解明した本研究の成果は新規なものである。さらにAl耐性への関わりも示すことで、スクロース輸送体の新しい機能を提案している。以上の理由から、学位に値すると判断された。