



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	The effects of type II Golgi-localized proton pyrophosphatase AVP2;1/VHP2;1 mutations on cell wall and root growth under low boron condition in <i>Arabidopsis thaliana</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	ONUH, Amarachukwu Faith
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第15671号
Issue Date	2023-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91172
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Onuh_Amarachukwu_Faith_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士（環境科学）

氏 名 ONUH Amarachukwu Faith

審査委員	主査	准教授	三輪 京子
	副査	教授	森川 正章
	副査	教授	田中 亮一
	副査	准教授	堀 千明

学位論文題名

The effects of type II Golgi-localized proton pyrophosphatase *AVP2;1/VHP2;1* mutations on cell wall and root growth under low boron condition in *Arabidopsis thaliana*
(シロイヌナズナのタイプIIゴルジ体局在プロトンピロホスファターゼ*AVP2;1/VHP2;1* 遺伝子変異の低濃度ホウ素条件における細胞壁と根の成長に対する影響)

土壌中の無機栄養は植物の成長や生存を決定する要因であり、無機栄養の欠乏は農業生産における収量や品質低下を引き起こす主要因のひとつである。ホウ素は植物の微量必須元素であり、日本やナイジェリアを含めて世界でホウ素欠乏による作物の障害が報告されている。ホウ素肥料の施用が一つの対処法であるが、土壌からの流出による環境汚染の問題に加え、植物種によって適切な濃度範囲が異なるため厳密な施肥管理が困難である。また、ホウ酸輸送体の発現上昇によってホウ素輸送が強化され、ホウ素欠乏耐性が向上した植物が開発されてきたが、これらの植物の使用は長期的には土壌のホウ素のさらなる欠乏を引き起こす懸念がある。ホウ素欠乏土壌での安定的な生産には、施肥や植物の輸送強化とは異なる対処法が求められている。

ホウ素の植物における生理機能は一次細胞壁のペクチン質多糖のラムノガラクトナンII (RG-II) を架橋し、細胞壁の安定性を保つことである。ペクチン質多糖はゴルジ体で合成されるが、ペクチン合成の場であるゴルジ体はプロトンポンプによって酸性化されている。モデル植物であるシロイヌナズナにおいて、*AVP2;1*はゴルジ体に局在するタイプIIプロトンピロホスファターゼであり、ピロリン酸の分解と共役して細胞質からゴルジ体へのプロトンの汲み入れを行う。*AVP2;1*タンパク質の活性、細胞内局在や組織での発現はこれまで明らかにされてきたものの、植物体における生理機能は実証されていなかった。先行研究において、野生型株と比較して低濃度ホウ素条件における主根長が増加したシロイヌナズナ変異体が単離され、原因変異として*AVP2;1*遺伝子のミスセンス変異が見出された。本論文では、植物体における*AVP2;1*の生理機能を明らかにし、*AVP2;1*遺伝子変異による低濃度ホウ素条件における成長改善の機構を明らかにすることを目的とした。

*AVP2;1*遺伝子にミスセンス変異を有する変異株は低濃度ホウ素条件では主根長の増加を示した一方、通常ホウ素条件では野生型株と比較して主根長に有意な差はなかった。*AVP2;1*遺伝子にT-DNA挿入をもつT-DNA挿入株2系統では、点変異株と同様に低濃度ホウ素条件で

の主根長の増加が観察された。T-DNA挿入株2系統では*AVP2;1*遺伝子のmRNA量が減少していた。これより、*AVP2;1*の機能の低下が低濃度ホウ素条件における主根長の増加の原因であることが示された。低pHや低濃度リン酸条件においては*avp2;1*変異体の主根伸長に野生型株と違いは観察されなかった。そのため、変異体での主根長の増加は低濃度ホウ素条件で特異的に観察されると考えられた。*avp2;1*変異体の根の細胞を顕微鏡で観察したところ、低濃度ホウ素条件において野生型株と比較して、根端分裂領域の長さ、分裂領域の細胞の数、成熟した細胞の長さが増加していた。これより、*avp2;1*変異体の根では低濃度ホウ素条件において細胞分裂と細胞伸長の双方の抑制が緩和されていることが分かった。

低濃度ホウ素条件での主根長の増加の原因を明らかにするため、まずホウ素吸収強化の可能性を検証した。ロゼット葉および根におけるホウ素濃度を測定したところ、*avp2;1*変異体と野生型株との間に違いは認められなかった。ホウ酸輸送体遺伝子 (*BOR1*, *BOR2*, *NIP5;1*) のmRNA量を根で定量したところ、*BOR1*と*BOR2*では有意差はなく、*NIP5;1*は*avp2;1*変異体で減少していた。この結果より、ホウ素吸収の強化が主根長の増加の原因である可能性は低いと考えられた。続いて、ホウ素が細胞壁で機能することから、細胞壁の変化を検証した。低濃度ホウ素条件において*avp2;1*変異体は根の細胞壁のカルシウム濃度の減少を示した。さらに、RG-II量の指標となるRG-II特異的な糖は低濃度ホウ素条件および通常ホウ素条件において*avp2;1*変異体で減少する傾向が観察された。

以上の結果より、*avp2;1*変異体ではホウ素の結合部位であるRG-II量が減少し、成長に必要なホウ素量すなわちホウ素要求量が減少したと考察された。先行研究において、異なる植物種間でペクチン量またはRG-II量とホウ素要求量が正の相関を示すことが報告されており、この知見と合致すると考えられた。

本学位論文は、植物体での機能が実証されていなかったゴルジ体に局在するタイプIIプロトンピロホスファターゼ*AVP2;1*が、植物においてゴルジ体の酸性化に寄与し、ペクチン合成に関与することを示唆するものである。また、施肥やホウ酸輸送体の発現強化とは異なるホウ素要求量減少によるホウ素欠乏耐性の向上を提唱するものである。本成果は、持続的な植物生産の基盤となる有用な遺伝子変異を同定する成果であると共に、生産者である植物の成長の分子機構に新しい知見を与えるものであり、植物生理学および環境科学として高い価値を有する。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。