氏 名 黄 勝

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 6275 号

学位授与の日付 2020年 9月25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

Physiological and Molecular Characterization of Zinc Uptake in Rice

(イネの亜鉛吸収に関する生理学的及び分子生物学的解析)

論文審查委員 教授 馬 建鋒 教授 且原 真木 准教授 山地 直樹

## 学位論文内容の要旨

Zinc (Zn) is an essential micronutrient for plant growth and development. It plays structural and catalytic roles in large number of proteins. However, the exact transporters involved in Zn uptake have not been identified. In the present study, I functionally characterized two rice genes; *OsZIP1* and *OsZIP9*, which belong to the Zn-regulated transporter, iron-regulated transporter-like proteins (ZIP; ZRT-IRT-related protein). *OsZIP1* is mainly expressed in the roots through the whole growth period and its expression is not induced by Zn-deficiency. Furthermore, *OsZIP1* is expressed in all root cells except epidermal cells of mature root region. The protein encoded by *OsZIP1* is able to transport Zn in the yeast. On the other hand, *OsZIP9* is also mainly expressed in the roots throughout all growth stages, but the expression is greatly up-regulated by Zn-deficiency. OsZIP9 is specifically expressed in the exodermis and endodermis of the root mature region. OsZIP9 is a plasma membrane-localized protein and shows transport activity of Zn in yeast. Knockout of *OsZIP9* significantly reduced plant growth, which was accompanied by decreased Zn concentrations in both the root and shoot when grown at low Zn concentrations. When grown in soil, Zn concentrations in the shoots and grains of knockout lines were decreased to half of wild-type rice. These results indicate that OsZIP1 is implicated in Zn uptake at wide range of Zn, while OsZIP9 contributes to Zn uptake only under Zn-limited conditions in rice.

I also investigated the mechanism responsible for Si-induced effect on Zn uptake in rice by using a rice mutant (*Isi1*) defective in Si uptake and its wild-type rice. High Zn inhibited the root elongation of both WT and Isi1 mutant, but Si did not alleviate this inhibition in both lines. By contrast, Si supply decreased Zn concentration in both the roots and shoots of the wild-type rice, but not in the *Isi1* mutant. A short-term (24 h) labeling experiment with stable isotope <sup>67</sup>Zn showed that Si decreased <sup>67</sup>Zn uptake, but did not affect the root-to-shoot translocation and distribution ratio to different organs of <sup>67</sup>Zn in the wild-type rice. Furthermore, Si accumulated in the shoots, rather than Si in the external solution is required for suppressing Zn uptake, but this was not caused by Si-decreased transpiration. A kinetic study showed that Si did not affect K<sub>m</sub> value of root Zn uptake, but decreased V<sub>max</sub> value in the wild-type rice. Analysis of genes related with Zn transport showed that among ZIP family genes, the expression of only *OsZIP1* implicated in Zn uptake, was down-regulated by Si in the WT, but not in the *Isi1* mutant. These results indicate that Si does not have direct alleviative effect on Zn toxicity, but that the Si accumulated in the shoots suppresses Zn uptake through down-regulating transporter gene involved in Zn uptake in rice.

## 論文審査結果の要旨

亜鉛は植物の必須微量元素で、様々な生理作用を持つ。しかし、植物の亜鉛吸収に関する分子機構はまだ十分明らかにされていない。本研究では、まずイネのZIPファミリーに属する二つの輸送体遺伝子OsZIP1とOsZIP9の機能解析を行った。OsZIP1は主に根で発現し、亜鉛欠乏で誘導されない。また組織局在を調べたところ、根において表皮以外のすべての細胞に発現していた。酵母にこの遺伝子を発現させたところ、亜鉛に対する輸送活性を示した。一方、OsZIP9も主に根で発現しているが、その発現は亜鉛欠乏によって大きく誘導された。またOsZIP1とは異なり、主に根の外皮と内皮で発現していた。酵母においても亜鉛に対する輸送活性を示したが、銅と鉄に対する輸送活性は見られなかった。この遺伝子を破壊すると、水耕条件下で外液の亜鉛の濃度が低い時に、生育の阻害や亜鉛濃度の低下が見られた。しかし、外液の亜鉛濃度が高い場合、生育及び亜鉛濃度に対する遺伝子破壊の影響が認められなかった。一方、土耕栽培の場合、遺伝子破壊株のワラと玄米中の亜鉛濃度は野生型イネの半分だった。これらの結果から、OsZIP1は広範囲の亜鉛条件において亜鉛の吸収に関与することを示唆し、OsZIP9は亜鉛欠乏時に、亜鉛の吸収に貢献することを示している。

一方、イネの亜鉛の吸収に対するケイ素の影響も調べた。ケイ素は直接亜鉛の毒性を軽減することはなかったが、亜鉛の吸収を抑制する効果が見られた。またこの抑制効果は根で発現する亜鉛輸送体遺伝子OsZIP 1の発現を抑制することに起因することを明らかにした。さらに、外液や根のケイ素濃度ではなく、地上部で蓄積されたケイ素がOsZIP 1発現の抑制、亜鉛の吸収に影響を与えていることを解明した。

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。