

イネのキシロオリゴ糖誘導性 *Wall-associated kinase* 変異体の塩ストレス耐性の検証

中島 玲菜 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

塩ストレスは、植物の成長や生育に影響を及ぼす。また、農業においても減産を引き起こす深刻な要因の一つだ。植物の塩ストレス耐性に寄与する要因の一つに、細胞壁構造があると考えられている。Na⁺を輸送する *Salt Overly Sensitive (SOS)* が欠損した *sos mutant* では、植物の耐塩性が低下する。このとき、細胞壁構造にも WT と違いがみられる。また、ヘミセルロース分解酵素が過剰発現したイネ (*Oryza sativa*) で、耐塩性の向上がみられたという報告もある。

Wall-associated kinase (WAK) は、植物の細胞壁に存在する *receptor-like kinase (RLK)* の一種であり、植物の環境応答に重要だ。WAK 遺伝子と塩ストレス耐性に関する報告としては、ペクチン応答性の *WAK1/2* がトマトやオオムギの耐塩性に関連があるというものがある。一方で、イネではペクチン分解酵素過剰発現変異体であるイネで耐塩性に变化がみられないため、トマトやオオムギとは異なる機構が塩ストレス耐性に関与すると考えられる。そこで、ヘミセルロース分解物応答性の遺伝子が塩ストレス耐性に寄与するかどうかについて着目して研究を行うこととした。ヘミセルロースやその分解物であるキシロオリゴ糖応答性の *WAK* と塩ストレスの関連性についての研究はほとんどなされていない。

イネの *OsWAK21* は、ヘミセルロースを構成するキシロオリゴ糖の添加で発現が誘導されることが本研究室で明らかとなっている。塩ストレスに耐性を示す品種と、感受性を示す品種で、塩ストレス前後での遺伝子発現変化トランスクリプトーム解析では、塩ストレスの前後の根で *OsWAK21* の発現に变化がみられたという報告もある。ヘミセルロース分解酵素が過剰発現しているイネでは、キシロオリゴ糖による *OsWAK21* の発現が誘導されている状態にあると考えられる。

本研究の目的は、細胞外の環境感知に機能する *WAK* が塩ストレス応答に果たす役割を明らかにするために、キシラン関連 *WAK* の中でも特に塩ストレスと関係があると予測される *OsWAK21* と塩ストレス耐性の関係を解明することである。そのため、機能欠損変異体である *oswak21* 変異体を用いて WT との塩ストレスに対する応答の違いを調べた。

また、*OsWAK21* は生殖成長期の葍や雌蕊、発生初期の胚においても高い発現を示すことが知られている。そのため、*oswak21* 変異体は種子に影響が生じて実験に使用できない懸念があった。この懸念を取り除くために、*oswak21* 変異体の生殖成長についても調査した。

【材料・方法】

1. *oswak21* 変異体の生殖成長の観察

モデル植物であるイネ (品種: 日本晴) の *oswak21* 変異体を開花後から成熟まで観察し、WT と比較した。また、成熟した種子の状態を観察した。

2. 塩ストレス条件下での生育状況の観察

イネ (品種: 日本晴) と、*oswak21* 変異体を用いて実験を実施した。異なる塩濃度条件下 (0 mM, 50 mM, 100 mM, 125 mM) にあるときの、両者の生育状態を調べた。塩ストレス処理は、16 日間の水耕栽培期間の最後 3 日間で実施した。塩ストレス処理直前と、塩ストレス終了時の地上部と根の長さをそれぞれ測定した。また、塩ストレス処理後のイネをサンプリングし、地上部と根それぞれの生重量 (fresh weight) と乾燥重量 (dry weight) を測定した。

【結果と考察】

oswak21 変異体の花は WT と比較して、葍の大きさが約 0.25 mm 小さかった。一方で、成熟速度、念実率ともに WT と比較して有意な差はなかった。成熟した種子において、*oswak21* 変異体の種子では、約 10% の種子で、大きさが WT の 15% 以下になっているものが存在していた。そのため、水耕実験で *oswak21* 変異体の種子の大きさの違いが、結果に影響するかどうかについて、生育調査をした。結果として、*oswak21* 変異体の種子の大きさの違いで有意な差はなかった。また、塩ストレス実験においても、種子の大きさの違いで有意な差はなかった。以上の結果から、*oswak21* 変異体の種子はいずれの大きさでも、その後の生育に影響を及ぼさないことが示唆された。

WT と *oswak21* 変異体を塩ストレス条件下で生育させた時、地上部においては両者の長さ、重量に有意な差はみられなかった。一方、根においては、長さの変化はなかったが、生重量に違いがあった。イネは、比較的弱い塩ストレスで成長が促進されることが知られている。今回の実験でも、WT では 50 mM のストレス条件下では根の生重量が増加していたが、*oswak21* 変異体では 50 mM の塩ストレスで 0 mM と比較して根の生重量が減少する傾向があった。また、成長が阻害される 100 mM, 125 mM において、*oswak21* 変異体は、WT と比較してより成長が抑制されていた。この結果から、*OsWAK21* はイネの根の塩ストレス耐性に寄与する可能性が考えられる。しかし、通常は致死性の濃度である 125 mM で、WT の生育が良好であったため、現在は再度実験を行っている。

【今後の展望】

再実験を行い、実験結果の再現性を確認する。その後、細胞壁構造の解析や、塩ストレス耐性に関連する遺伝子の発現解析などを通じて、より詳細に WT と *oswak21* 変異体の差異を調べること、*OsWAK21* と塩ストレス耐性の関連を解明する。