

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 軸丸 裕介

病原体の感染を受けた植物では、病原体の細胞表層由来の断片などがエリシターとなって細胞膜表層の受容体と結合し、これにより病原体感染が認識される。そして、これが引き金となって、過酸化水素などの活性酸素種の発生、pathogenesis-related protein と総称される抗菌性タンパク質の生産、ファイトアレキシンと総称される低分子の抗菌性二次代謝産物の生合成など、様々な抵抗性反応が誘導される。

イネ液体培養細胞においても、キチンエリシター処理によりファイトアレキシン生産が誘導されるが、その反応系においてジャスモン酸 (JA) がシグナル伝達物質として重要な役割を果たしていることが示された。しかしながら、培養細胞では JA 単独でファイトアレキシンの生産は微弱にしか誘導されず、ジャスモン酸 (JA) とともに機能する、重要な因子の関与が考えられていた。そこで、本論文では、イネの主要ファイトアレキシンであるモミラクトン類、ファイトカサン類、サクラネチンの LC-MS/MS による網羅的解析法を確立するとともに、イネの培養細胞や葉におけるそれらファイトアレキシンの生産誘導に、JA とともに関与する因子を追究した。また、JA 受容体等の JA 結合タンパク質の単離・解析に有用な分子プローブの開発も試みた。

まず、第 1 章で、ジャスモン酸の生理機能やシグナル伝達、ファイトアレキシン生合成系について概観し、本研究の目的を示した。

第 2 章では、LC-MS/MS によるイネの主要ファイトアレキシン類の網羅的解析法を確立するとともに、各種エリシターのファイトアレキシン誘導活性をイネ (*Oryza sativa* L. cv. Nipponbare) の液体培養細胞及び葉で測定し、確立したファイトアレキシン類の解析法の有用性を確認した。更に、この解析法を用いて、ファイトアレキシン生産に JA と協調的に機能するシグナル因子の探索を試みた。

培養細胞では、JA 単独処理では微弱にしか生産されないが、光照射下の葉では JA 単独処理でも顕著にモミラクトン類が生産されることに着目し、培養細胞では発生しないが光照射下の葉では恒常的に発生している過酸化水素などの活性酸素と JA が協調的に機能している可能性を追求した。その結果、培養細胞に JA と過酸化水素を同時処理するとキチンエ

リシター処理に近いレベルのモミラクトン類の生産が認められることが示された。また、葉におけるサクラネチン生産においても、過酸化水素と JA の相乗効果が認められた。ファイトカサン類については、JA と過酸化水素を同時処理してもエリシター処理のレベルの 1/2 程度までの増加しか見られなかった。一方、キチンエリシター処理によりリン脂質から遊離し、過酸化水素誘導活性を示すことが示されているフォスファチジンサンについても、JA との協調作用があるかどうかを調べた。モミラクトン類、ファイトカサン類については顕著な JA との相乗効果は認められなかったが、葉におけるサクラネチン生産には過酸化水素以上の相乗効果を示した。こうして、イネの主要 3 系統のファイトアレキシン類の生合成には、JA、活性酸素を中心としつつも相互に異なる制御機構が機能している可能性が示された。

第三章では、JA 結合タンパク質の単離・解析に向けた分子プローブの開発を行った。比較放射性の高い標識体の調製が容易な JA-アミノ酸 (glycine, alanine, β -alanine, valine, leucine, isoleucine) 複合体、酵母 three-hybrid system による JA 結合タンパク質遺伝子の単離に bait として用いる JA-dexamethasone 複合体、JA 結合タンパク質のアフィニティー精製に用いる JA-biotin 複合体、nonradioactive で JA 結合タンパク質の標識に用いる JA-fluoresceine isocyanate (JA-FITC) 複合体を合成し、3 種の検定系でそれらの生理活性を測定した。その結果、JA-FITC 複合体以外の化合物は JA 様の生理活性を示し、分子プローブとして有用である可能性が示された。また、3 種の検定系で、合成した化合物が異なる活性スペクトルを示したことから、それぞれの検定系で複数の異なるタイプの受容体が機能している可能性も示された。

以上、本研究はイネにおけるエリシター誘導のファイトアレキシン生産に過酸化水素が JA と協調的に機能する重要なシグナル因子であることを明らかにするとともに、JA 受容体の単離・解析に有用な分子プローブを開発したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。