

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 岡田 敦

本研究は、イネジテルペン型ファイトアレキシン momilactones 生合成に関与するジテルペン環化酵素遺伝子 *OsKS4* のキチンエリシター応答性発現機構の解明を目的として行ったものである。

本研究の背景と目的を述べた第一章に続いて、第二章では *OsKS4* の上流域に存在するエリシター応答性転写制御領域の同定を行い、デリーション、ミューテーションシリーズを用いたレポータージーンアッセイの結果から、*OsKS4* の発現に bZIP 型転写因子が関与することを示唆した。

第三章では、*OsKS4* の発現を制御する bZIP 型転写因子を探索する観点から、まずエリシター処理したイネ培養細胞を用いた経時的マイクロアレイ解析を行い、10 種のエリシター応答性を示す可能性がある bZIP 型転写因子遺伝子が存在することを示した。これらの bZIP 型転写因子遺伝子について系統樹解析を行ったところ、3 種の遺伝子 (AK073715, AK102690, AK106988) が、group D に分類され、病害応答に関与する可能性が示されたことから、これらをそれぞれ *OsTGA1*、*OsBZIP21*、*OsBZIP65* と命名した 3 種の遺伝子のうち *OsTGA1*、*OsBZIP21* の 2 種については、momilactones 生産を誘導するエリシター処理、ジャスモン酸・H₂O₂ 同時処理による発現誘導を RT-PCR により確認した。

第四章においては、*OsTGA1*、*OsBZIP21* の *Tos17* 挿入変異株を用いた解析を行った。その結果、2 種の変異株のうち *Ostgal* 変異株において *OsKS4* の発現、及び momilactones 生合成量の顕著な低下が認められた。また、酵母 GAL4 タンパク質の DNA 結合ドメインと *OsTGA1* との融合タンパクをイネ培養細胞に一過的に発現させる系を用いたレポータージーンアッセイにより、*OsTGA1* は activator として機能していることが示され、さらに、ゲルシフトアッセイにより *OsTGA1* が *OsKS4* の上流域におけるエリシター応答性の転写制御領域に特異的に結合することが明らかになった。以上の結果から、*OsTGA1* が *OsKS4* のエリシター応答的発現に activator として直接関与することが強く示唆された。

第五章では、*OsTGA1* の制御下にある遺伝子を網羅的に探索するため、*Ostgal* 変異株を用いたマイクロアレイ解析を行った。その結果、*OsTGA1* が *OsKS4* を含む一連の momilactones 生合成酵素遺伝子の発現に関与することが強く示唆された。また、病害応答性に関与することが予

想される多くの遺伝子の発現の制御にも関与している可能性が示された。

また、補章では第三章で得られたマイクロアレイの結果を用いた解析により 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphate (MEP) 経路の遺伝子がエリシター応答性を有していることを示し、イネのジテルペン型ファイトアレキシン生合成に MEP 経路が関与することを示唆した。

以上、本論文は、イネのゲノム情報を駆使しつつ、マイクロアレイ解析、*Tos17*挿入変異体ラインの表現型の解析を行い、bZIP 型転写因子 *OsTGA1* が、ジテルペン環化酵素遺伝子 *OsKS4* を始めとする一連の momilactones の生合成酵素遺伝子の発現を制御している可能性を示すとともに、*OsTGA1* が momilactones 生合成だけでなく他の病害応答性遺伝子の発現制御にも関与していることを示唆したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委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。