

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

若尾 正示

申請者氏名

マメ科植物と根粒菌の共生によって形成される根粒の窒素固定は、地球レベルの窒素循環においてきわめて重要な反応である。マメ科植物による根粒形成能は他の植物も共通に保有する系を利用し、これを進化の過程で改変したものであり、この能力を他の植物に付与することは近い将来可能になるものと考えられる。本論文は、マメ科植物による根粒形成のメカニズムを *Sesbania rostrata* - *Azorhizobium caulinodans* 共生系を用いて、根粒菌の細胞外膜に存在するリポ多糖 (LPS) の構造の違いがどのように根粒形成に影響を与えるかを解明したものである。

本論文は3章よりなり、序論に続く第1章では根粒菌 *Azorhizobium caulinodans* ORS571 株の *Tn5* 挿入変異株約 10000 株を用いて、根粒形成に関与する遺伝子で根粒の成熟および維持に関与すると考えられる変異株をスクリーニングし、約 100 株の変異株を選抜した。つぎに、選抜した変異株の *Tn5* 挿入領域の塩基配列解読およびそれぞれの根粒形状、窒素固定能などを調べ、これらのデータに基づいて7つのグループに分けた。最終的に、これらの中から LPS 合成系の遺伝子である *rfaD*, *rfaE*, *rfaF* に *Tn5* が挿入された変異株 3 株を選んだ。これらの変異株は根粒菌が感染細胞に侵入する段階前後で根粒形成がブロックされている変異株と考えられた。第2章では、まずこれらの変異株の原因遺伝子がそれぞれの *Tn5* 挿入遺伝子であることを遺伝子破壊と相補試験により確認した。つぎに、3株の変異株および O 抗原部位の構造に欠損が見られる変異株 *oac2* を用い、LPS を抽出・精製し、構造の違いを確認し、それぞれの LPS が遺伝子機能から推定される構造であることを確認した。これらの4株によって形成される根粒の性状を確認したところ、LPS のアウターコア部位の存在が根粒菌の植物細胞への侵入に必須である可能性を示唆した。第4章では、LPS のインナーコア部位の構造に欠損の見られる変異株 (*rfaD*, *rfaE*, *rfaF* に変異が入った3株) を用いて、根粒内部の電子顕微鏡観察、感染後の植物側の遺伝子発現などを調べた。その結果、インナーコア部位の欠損は感染細胞への侵入は起こすが、その後、植物細胞の老化を誘導することを確認した。

以上、本論文では根粒菌の LPS の構造が根粒菌の感染細胞への侵入と感染細胞内でのバクテロイドの維持に関係することを示したものであり、審査委員一同は学術上、応

用上価値あるものと認め、博士（農学）の学位論文として十分な内容を含むものと認めた。