

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 清水 崇史

本研究は、イネのジャスモン酸 (JA) 生合成変異株等のキャラクタリゼーションを行うと共にこれらを有効に用いることで、イネの病害抵抗性発現における JA の生理機能を解明することを目的として行われたものである。

本研究の背景と目的を述べた第 1 章に続き、第 2 章では、まずイネの JA 生合成酵素の一つである allene oxide cyclase の変異株である *cpm2* や *hebiba* のキャラクタリゼーションを行い、これらの変異株においては、野生型株で観察される傷害やエリシター処理時の JA の蓄積が顕著に低下していることを示した。また、これらの株におけるエリシター処理時のファイトアレキシン生産を詳細に解析することにより、フラボノイド型ファイトアレキシンであるサクラネチンの生産、特にその生合成の最終段階を担う naringenin *O*-methyltransferase (NOMT) の発現もしくは活性化には JA が必須であること、及びジテルペン型ファイトアレキシンの生産には必ずしも JA が必須ではないことを明らかにした。このことから JA による NOMT の発現もしくは活性化の制御機構を解明することが JA シグナル伝達機構を明らかにする上で重要な知見となるものと考えられた。また、ジテルペン型ファイトアレキシンの生産については「JA 非依存性シグナル伝達系」が関与していることが明らかになった。さらに、*cpm2* や *hebiba* を用いたいもち病菌接種試験を行うことで、いもち病菌の侵入や菌糸の伸展に対する抵抗性発現において JA が重要な機能を果たしていることを示した。

第 3 章ではイネの *N*-jasmonoyl isoleucine 合成酵素と推定される OsJAR1 の変異株である *osjar1* のキャラクタリゼーションを行い、イネにおいても OsJAR1 が JA-Ile の生合成を担っており、且つ JA-Ile がイネにおいても重要な JA シグナル伝達因子であることを示した。また、この *osjar1* を用いた解析により、イネの JA 誘導的なファイトアレキシン生産には JA-Ile が必要であること、また、いもち病菌接種試験を行うことで、*cpm2* や *hebiba* と同様に *osjar1* においても野生型株と比較して、形成される病斑のサイズがわずかではあるが有意に大きくなることを示した。このことから第 2 章で示された、いもち病菌の侵入や菌糸の伸展に対する抵抗性における JA の機能は、JA-Ile を介して発現していることが強く示唆された。

第 4 章では、JA によるサクラネチン生合成制御機構解明の足がかりとするため NOMT の単離・同定を試みた。これまで行われてきた NOMT の精製・単離研究では、NOMT 活性画分からは、少なくとも大腸菌を用いた組換え酵素では NOMT 活性を示さない caffeic acid *O*-methyltransferase 1 (OsCOMT1) が得られていた。そこで本研究では、OsCOMT1 が *in vivo* で NOMT 活性に関与しているかどうかを、OsCOMT1 の変異株である *oscomt1* を用いることで調べることにした。その結果、OsCOMT1 はイネ植物体内においても NOMT 活性は有さないこ

とが示された。そこで次に、この *oscomt1* を用いて NOMT の単離・同定を試みることにした。その結果、アフィニティ精製により顕著に NOMT の比活性の上昇が認められた画分から、2 つの *O*-methyltransferase と推定されるイネのタンパク質が見出された。これらをコードする遺伝子である Os04g0175900 及び Os12g0240900 は、マイクロアレイ解析の結果から、Os12g0240900 はイネ葉において強い JA 応答性を示すこと、Os04g0175900 はイネ葉で、JA 応答性、発現レベルがともに低いことがわかった。さらに、両遺伝子の cDNA を大腸菌で発現させたところ、Os04g0175900 の遺伝子産物の NOMT 活性は微弱であったが、Os12g0240900 の遺伝子産物は明瞭な NOMT 活性を示した。以上の結果から、イネにおける主要な *NOMT* は Os12g0240900 であると結論した。*NOMT* の発現は強い JA 依存性を示すことから、今後 *NOMT* の発現制御機構の解明を行うことで、イネの病害抵抗性発現における JA のシグナル伝達機構解明の足がかりが得られるものと期待される。

以上、本研究は、イネのいもち病菌に対する抵抗性の発現において JA-Ile を介した JA シグナル伝達が重要な機能を担っていることを示すと同時に、イネの主要ファイトアレキシンの一つで、JA 依存的に生産誘導されるサクラネチンの生合成における鍵酵素である *NOMT* の機能同定に成功したもので、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。