

学位論文審査の結果の要旨

氏名	宇治 雄也
審査委員	主査 五味 剣二 副査 秋光 和也 副査 曳地 康史 副査 木場 章範 副査 小林 括平

論文名

イネ病害抵抗性誘導時に重要なジャスモン酸シグナル伝達機構の解明

審査結果の要旨

近年、植物ホルモンの一つであるジャスモン酸(JA)のシグナルが、植物病害抵抗性において重要な役割を担っていることが明らかとなっているが、イネにおける詳細な JA シグナル伝達機構は未知な部分が多かった。そこで当研究室ではイネの重要病害であるイネ白葉枯病をモデルに研究が進められている。これまでに、転写因子に結合し、JA シグナルを負に制御する Jasmonate-Zim-Domain (JAZ) タンパク質である OsJAZ8 が、JA 誘導性のイネ白葉枯病抵抗性機構に重要であることが明らかとなった。しかしながら、OsJAZ8 によって制御される転写因子やその転写因子が制御する下流のシグナル伝達機構は未解明であった。そこで本研究では、OsJAZ タンパク質によって制御される二つの転写因子について詳細な解析を進めている。一つ目に、OsJAZ8 と直接相互作用する転写因子 OsMYC2 に着目し、JA 誘導性のイネ白葉枯病抵抗性及び老化現象において OsMYC2 がどのような機能を有しているかを解明した。二つ目に、MYB 型転写因子である JMTF1 に着目した。JMTF1 は、遺伝子発現レベルで OsJAZ8 の制御下にあることが明らかとなっているが、イネ白葉枯病抵抗性においては機能未知である。そこで、イネ白葉枯病抵抗性において JMTF1 がどのようなシグナルを制御し、寄与しているかを解明した。

I : OsMYC2 の JA 誘導性イネ白葉枯病抵抗機構及び老化現象における役割

OsMYC2 はイネに存在する 15 個の OsJAZ のうち、OsJAZ14 以外の全ての OsJAZ と結合することが明らかとなった。また、OsMYC2 過剰発現イネは、JA に対して高感受性の表現型を示し、イネ白葉枯病に対する抵抗性が強化された。また、この過剰発現イネでは JA 早期応答性の抵抗性関連遺伝子及び OsJAZ10 の発現が顕著に誘導されていた。そこでそれら遺伝子のプロモーターを標的とした ChIP-qPCR 解析を行った結果、OsMYC2 は特定の遺伝子の G-box-like モチーフを認識することが明らかとなった。以上のことから、OsMYC2 は JA シグナルのポジティブレギュレーターとして機能し JA 早期誘導性のイネ白葉枯病抵抗機構において重要な転写因子である

ことが明らかとなった。OsMYC2 は上記の解析時において、JA 処理条件下で葉の黄化現象を促進することが明らかとなった。そこで、暗所において誘導される老化現象に OsMYC2 が関与するかを明らかにするため、dark-induced senescence 解析を行った結果、OsMYC2 過剰発現イネでは暗条件下でのクロロフィル分解が促進され、老化が促進することが明らかとなった。そこで OsMYC2 過剰発現体における老化関連遺伝子(SAG 遺伝子)の発現挙動を調べたところ、いくつかの SAG 遺伝子の恒常的な発現誘導が認められた。さらに、OsSAG12 遺伝子のプロモーターの G-box に OsMYC2 が結合することが明らかとなった。以上のことから、OsMYC2 は老化作用を正に制御する転写因子であることが明らかとなった。

II : JMTF1 の JA 誘導性イネ白葉枯病抵抗機構における役割

JMTF1 を過剰発現させたイネは、JA 高感受性を示したことから JMTF1 は JA シグナルの正の制御因子であることが明らかとなった。さらに、この過剰発現イネはイネ白葉枯病抵抗性が強化されることも明らかとなった。次に、JA 誘導性 PR 遺伝子の発現挙動を調べたところ、JMTF1 過剰発現イネにおいてリグニン合成に関与する peroxidase (Prx)をコードする OsPrx26 の顕著な発現誘導が認められた。そこで OsPrx26 プロモーターを標的とした ChIP-qPCR 解析を行った結果、JMTF1 は OsPrx26 プロモーター上の特定の cis-element を認識することが明らかとなった。また、興味深いことに JMTF1 過剰発現イネにおいて揮発性テルペン合成酵素遺伝子である OsTPS24 の発現が顕著に誘導され、OsTPS24 の合成産物で、イネ白葉枯病菌に対して抗菌活性を有する γ -terpinene が高蓄積していることが明らかとなった。以上のことから、JMTF1 は OsPrx26 及び OsTPS24 の発現を制御することによりリグニン合成及び γ -terpinene 合成に関与し、イネ白葉枯病抵抗機構に寄与する可能性が示された。さらに興味深いことに、JMTF1 過剰発現イネは、これまでに報告されているオーキシン非感受性イネの表現型と酷似していることが明らかとなった。そこで、JMTF1 過剰発現イネの重力屈性を調べたところ、重力屈性能の低下がみられた。以上のことから、JMTF1 は JA シグナルを正に制御する因子であると同時に、オーキシシンシグナルの負の制御因子である可能性が示された。近年の研究により、オーキシンがイネ白葉枯病抵抗性を負に制御することが明らかになっている。そこで、オーキシン応答性遺伝子の JMTF1 過剰発現イネにおける発現挙動を解析したところ、多くの遺伝子の発現が抑制されていた。一方で、オーキシシンシグナルの負の制御因子である OsIAA13 遺伝子の発現が、誘導されていた。以上のことから、イネ白葉枯病抵抗性において、JA とオーキシンは拮抗関係にあり、その分子スイッチとして JMTF1 が機能している可能性が示された。

以上のことから、OsMYC2 及び JMTF1 が複雑なホルモンシグナル伝達機構を制御することにより JA 誘導性のイネ白葉枯病抵抗機構に寄与していることが明らかとなった。

学位論文の公開審査会は平成31年2月9日に愛媛大学農学部で開催され、論文発表と質疑応答が行われた。続いて開催された学位論文審査会において慎重に審査を行った結果、審査委員が全員一致して博士（農学）の学位を授与するに値すると判定した。