

審査の結果の要旨

氏名 小川 哲史

植物は病原菌の感染を受けると、ジャスモン酸 (JA) などの二次シグナル物質を介したシグナル伝達を誘導し、最終的に抗菌性化合物であるファイトアレキシンの生産など様々な抵抗性反応を誘導する。イネの主要なファイトアレキシンの一つであるフラボノイド型のサクラネチンの生産は、JA を要求する防御応答である。本研究は、JA 要求性防御応答のモデルケースと考えられるサクラネチンの生産誘導に着目し、サクラネチン合成酵素 naringenin 7-O-methyltransferase (NOMT) をコードする遺伝子 *OsNOMT* の発現誘導に関与する転写因子の機能解析を通じて、JA 要求性を示すサクラネチン生産の制御機構解明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、*OsNOMT* の発現制御に関わる bHLH 型転写因子 *OsMYC2* および *OsMYC2* と同源性のある *OsMYC2*-like protein (*OsMYL1*) をマイクロアレイ解析データから選抜した後、これらの機能解析によって、*OsMYC2* が *OsNOMT* のプロモーター活性を顕著に上昇させることを示した。また、*OsMYC2* による *OsNOMT* のプロモーター活性の上昇が、*OsMYL1* の共存により相乗的に亢進することを示した。次に、*OsMYC2* 発現抑制株においては、JA 誘導的な *OsNOMT* 発現およびサクラネチン蓄積と前駆体であるナリンゲニンの蓄積が抑制されることを明らかにし、*OsNOMT* の発現およびサクラネチンの生産が *OsMYC2* の制御下で起こっていることを示した。また、*OsMYL1* と同源性の高い *OsMYL2* についても解析したところ、*OsMYC2* との共存下において相乗的な *OsNOMT* のプロモーター活性の上昇を認めた。これらの転写因子については、*in vitro* および *in vivo* で物理的にタンパク質間相互作用を示すことを実証し、この一連の結果から、*OsMYC2* が *OsMYL1* および *OsMYL2* と相互作用することで活性化し、*OsNOMT* の発現を JA 誘導的に上昇させることで、サクラネチンの生産を促進する制御モデルを提唱した。

第3章では、*OsMYC2* 発現抑制株を用いて RNA-Seq 解析を行い、サクラネチン生合成の前駆体化合物であるフェニルアラニンから下流に位置する経路上の

関連遺伝子群のうち、*OsNOMT* を含めたサクラネチン生合成の後半を担う下流遺伝子群の発現が *OsMYC2* を介して JA により誘導されることを示した。また、*OsMYC2* 発現抑制株では、JA 生合成遺伝子の発現が全て低下しており、*OsMYC2* 発現抑制株では JA シグナルが活性化されずサクラネチン生合成能が顕著に低下することを強く示唆した。なお、*OsMYC2* 発現抑制株においては抗菌性化合物の生合成遺伝子や抗菌性タンパク質をコードする遺伝子の発現も低下していたことから、*OsMYC2* がサクラネチン生産を含めたイネの防御応答全般に対し主要な役割を果たしていることを示唆した。

第 4 章では、*OsNOMT* のプロモーターに結合し発現を直接制御する転写因子を yeast one-hybrid screening により探索することで 8 個の候補転写因子を得た。*OsNOMT* のプロモーター活性に対する候補転写因子の影響を解析したところ、鉄欠乏応答に関与する Iron deficiency-responsive *cis*-acting element binding factor (IDEF) である *OsIDEF2* が *OsMYC2* と相乗的に *OsNOMT* の発現を上昇させることを見出した。*OsIDEF2* と同様な鉄欠乏応答性の転写因子である *OsIDEF1* がジャスモン酸シグナルを活性化する報告があることから、*OsIDEF2* も *OsMYC2* を介したジャスモン酸シグナルの増強により、*OsNOMT* の制御に関与する新たな制御因子である可能性を示した。

第 5 章にて、研究の総括と、今後の展望・課題について議論を行った。

以上、本研究は、サクラネチン生合成の鍵酵素となる *NOMT* をコードする遺伝子の発現を制御する複数の転写因子の同定と機能解析を行い、それらによる制御モデルを示したものである。これらの研究成果は、学術上、応用上寄与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。