

## 審査の結果の要旨

氏名 ワレア イワナ

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、最終的に生物活性を有するテルペノイドやフラボノイドの生産など、様々な化学防御物質による抵抗性反応を駆動する。このような抵抗性反応における JA を介したシグナル伝達機構の解明は、植物の防御応答を理解する上で重要である。本論文は、イネの JA シグナル伝達経路で機能することが予想される傷害誘導性 bHLH 型転写因子の RERJ1 に着目し、同経路のマスターレギュレーターとして知られる OsMYC2 転写因子とその抑制を担う OsJAZ タンパク質とのタンパク質間相互作用と下流ターゲット遺伝子の発現解析、およびゲノム上の遺伝子制御領域への結合解析を通じて、JA シグナル伝達経路における RERJ1 の機能解明を目的として行われたものである。

本論文で行われた研究の背景と目的を述べた第 1 章に続き、第 2 章では、まず植物細胞内での OsMYC2 と RERJ1 とのタンパク質間相互作用の可能性を示した後、イネに 15 種存在する OsJAZ タンパク質との相互作用を酵母ツーハイブリッドシステムにより解析し、RERJ1 と相互作用する候補を同定している。この結果から、RERJ1 が傷害応答時に JA シグナル伝達経路において、OsMYC2 と協調的あるいは物理的に近い位置に存在し作用することで下流の JA 応答性遺伝子の発現制御に関わる可能性が浮上し、また、特定の OsJAZ タンパク質が RERJ1 と相互作用することで、転写活性化因子として機能する RERJ1 の活性が抑制されることを示唆した。

第 3 章では、OsMYC2 と RERJ1 との転写レベルでの制御の相互関係について、*RERJ1-Tos17* 挿入変異体と *OsMYC2-RNAi* 発現抑制株を用いて、JA 処理および傷害処理後の経時的な転写産物の発現変動を解析し、JA 処理による誘導的な RERJ1 の発現が OsMYC2 の制御下にあることを示している。一方で、傷害ストレス時の RERJ1 の誘導的な発現では、OsMYC2 に依存しないバイパス経路の存在も示唆している。さらに、OsMYC2 の傷害処理時および JA 処理時の発現が、RERJ1 の欠損により減少傾向となることを示し、RERJ1 が JA シグナル伝達におけるマスター転写因子 OsMYC2 の発現に対しても影響を与えることを明らかにしている。また、第 2 章において RERJ1 と特定の OsJAZ との相互作用が認められたことから、RERJ1 の *OsJAZ* 遺伝子に対する発現制御を調べたところ、複数の *OsJAZ* 遺伝子の傷害処理時および JA 処理時の発現が RERJ1 依存적であり、特に *OsJAZ5*, *OsJAZ9*, *OsJAZ11* の 3 つの遺伝子発現は顕著な RERJ1 依存性を示し

ていた。これらの結果から、傷害応答時には、JA シグナルにより活性化した OsMYC2 の働きにより RERJ1 の発現が促され、下流の JA 応答性遺伝子の発現が誘導されるが、その際、RERJ1 特異的な OsJAZ 遺伝子の発現も引き起こされ、RERJ1 の転写活性化能が抑制されるフィードバック制御機構の存在を示唆している。

第 4 章では、傷害応答時に RERJ1 によって直接的に発現制御を受けるレギュロン探索の目的で、human dopamine receptor の 10 アミノ酸残基を RERJ1 の N 末端にエピトープタグとして融合した形で過剰発現する形質転換イネ AGIA-RERJ1 を作出し、マイクロアレイ解析を行っている。その結果、OsJAZ 遺伝子群と共に、テルペン合成酵素遺伝子やプロテアーゼインヒビター遺伝子など、多くの防御関連遺伝子の発現が誘導されることを見出している。これらの RERJ1 により発現誘導を受ける遺伝子の中で、昆虫誘因活性や抗菌活性などを保持したモノテルペン揮発性化合物であるリナロールの生合成遺伝子 OsLIS の発現は、RERJ1-Tos17 変異株において顕著にその発現誘導性を失う。そこで、RERJ1 による直接的な OsLIS 発現の制御を検証するため、抗 AGIA 抗体および抗 RERJ1 抗体を用いた Chromatin Immunoprecipitation (ChIP)-PCR により、OsLIS 遺伝子プロモーターへの RERJ1 の結合を調べた。その結果、翻訳開始点上流-135 bp から-4000 bp の間に存在する E-box、G-box、または任意の配列を含む領域の濃縮はいずれも確認されず、in planta で RERJ1 が OsLIS プロモーターに直接結合する証拠は得られなかった。同様に OsJAZ5 遺伝子のプロモーター領域に対する結合も調べたところ、こちらも RERJ1 による直接的な結合を示すには至らなかった。これらの結果から、傷害応答時に発現する RERJ1 により OsLIS 遺伝子の発現誘導が起こるが、その制御は間接的であると考えられる。同様に、抑制因子である OsJAZ5 の発現においても RERJ1 による直接的な発現制御は認められないが、OsJAZ5 により RERJ1 の転写活性化能が抑制されるという制御様式を提示した。

第 5 章においては、2 章から 4 章までの研究を総括すると共に、今後の展望・課題について議論を行っている。

以上、本論文は、JA シグナル伝達の鍵因子である OsMYC2 と OsJAZ と共に働く RERJ1 の傷害応答時における機能についてレギュロン同定を含む直接的なプロモーター領域への結合をもとに証明し、OsJAZ によるフィードバック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。