

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ジュリアニ カリニ イシダ

寄生植物は、ほかの植物の中に侵入し、水や栄養分を奪って生活する植物である。アフリカ地方に広く分布し、単子葉植物のトウモロコシやモロコシなどの穀物の根に寄生し、水分や栄養分を横取りして収穫量を減らすストライガ (*Striga hermonthica*) を代表として、ハマウツボ科の寄生植物は世界中で大きな食糧問題を引き起こしている。*S. hermonthica* は絶対他家受粉植物であり、変異体単離による遺伝学的なアプローチは難しい。また、逆遺伝学解析には形質転換技術が必要であるが、未だ確立されていない。そこで、寄生植物のモデル植物として、ハマウツボ科に属する日本産の寄生植物コシオガマ (*Phtheirospermum japonicum*) に着目した。コシオガマは東アジアで発生し、広い宿主域をもつ。また、条件的寄生植物であるため、宿主なしでも生育でき、形質転換技術が確立されている。本研究ではコシオガマをモデルとしてトランスクリプトーム解析を行い、寄生植物・宿主相互作用解析の基盤確立を試みた。

1. 宿主への吸器形成時特異的に発現制御される遺伝子のトランスクリプトーム解析

寄生植物は吸器と呼ばれる器官を形成して宿主植物から水分や栄養分を搾取する。コシオガマが宿主感染時に形成した吸器から全 RNA を抽出し、次世代シーケンス解析を行い、吸器特異的な発現遺伝子を解析した。次世代シーケンスにより得られた配列は 58137 断片にアSEMBL され、平均長 811 塩基であった。ジーンオントロジー解析により、吸器では "structural molecules activity" ならびに "ribosome" にカテゴリー化される遺伝子の発現が上昇していることが明らかになった。コシオガマと同じく条件的寄生植物である *Triphysaria vesicolor* の吸器形成に必要な quinone reductase 1 (QR1) の発現は変化なかったが、そのホモログである QR2 の発現が顕著に上昇していた。ストライガでも同様に QR1 は変動せず、QR2 は発現上昇していた。

2. 吸器形成時特異的に発現制御されるセリンプロテアーゼの解析

また、セリンプロテアーゼの 1 種であるサブチラーゼ (SBT) の発現が吸器形成時特異的に顕著に上昇していた。そこで、SBT の詳細な解析を行った。コシオガマを宿主のイネと非宿主のミヤコグサに処理し、経時的に 5 つの SBT 遺伝子 (PjSBT2, -4, -7, -8, -11) の発現を解析したところ、いずれも宿主に寄生した場合には発現が検出されたが、非宿主の場合には発現しなかった。さらに PjSBT 遺伝子群のプロモーター解析を行ったところ、吸器の宿主の根への接着部位特異的に発現していた。

3. DMBQ により誘導される吸器形成特異的発現制御遺伝子のトランスクリプトーム解析

コシオガマの吸器は DMBQ (2, 6-dimethoxy-p-benzoquinone) 処理により形成が誘導される。そこで、RNA seq 解析により得られた配列をもとにコシオガマのマイクロアレイを作成し、DMBQ 処理後の経時的なトランスクリプトーム解析を行った。発現変動遺伝子は 3 つのクラスターに分類された。クラスター 1 は発現低下する遺伝子群であり、リグニン化関連遺伝子、細胞壁形成遺伝子など 706 遺伝子が含まれていた。クラスター 2 は DMBQ 処理 3 時間後までに誘導される遺伝子群であり、WRKY など 396 遺伝子が含まれていた。クラスター 3 は DMBQ 処理 3 時間以降に誘導される遺伝子群であり、細胞壁修飾遺伝子など 475 遺伝子が含まれていた。

4. DMBQ による吸器形成時に誘導されるオーキシン合成遺伝子の解析

オーキシン合成遺伝子である YUCCA3 のホモログ (PjYUC3) がクラスター 3 に分類されたため、この遺伝子の機能解析を行った。PjYUC3 のプロモーター解析により、PjYUC3 が根端分裂組織ならびに吸器形成開始部位で発現することを明らかにした。PjYUC3 をサイレンシングすると吸器の数が減少した。以上を通じて PjYUC3 が吸器形成に重要であることを示した。

5. 宿主寄生時に発現制御される寄生植物・宿主遺伝子のトランスクリプトーム解析

コシオガマが宿主であるイネに寄生する際に発現制御されるコシオガマ・イネ双方のトランスクリプトーム解析を行った。その結果、2917 個のコシオガマ遺伝子と 1155 個のイネ遺伝子が発現上昇することが明らかになった。コシオガマでは転写因子である cytokininine response factor (CRF) 遺伝子がハブ因子として発現上昇していると考えられた。一方、細胞壁修飾酵素遺伝子がコシオガマ・イネ双方で発現上昇していた。

以上を要するに、本研究ではモデル寄生植物であるコシオガマの全ゲノムトランスクリプトームを確立し、吸器形成に関与するコシオガマ遺伝子ならびに宿主遺伝子を同定し、寄生植物の感染に関与する分子メカニズムを初めて明らかにした。以上より、本研究の成果は、学術上の新規性、また応用上極めて価値が高い。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。