

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	築山 拓司
論文題目	Analyses of stress-defense mechanisms with PR-3 chitinases and stress-induced genetic variability in rice (<i>Oryza sativa</i> L.) (イネにおけるPR-3キチナーゼを介したストレス防御機構とストレスによって誘発される遺伝的多様性獲得機構の解析)		
(論文内容の要旨)			
自然界において、生物は、全生育期間を通じて様々なストレスにさらされる。植物は、高度な代謝制御機構を有しており、種々のストレスに対して耐性や抵抗性を示す。ストレスは、個体の生育に負の効果を及ぼす一方で、集団における遺伝的多様性を高め、進化を促す要因でもある。本研究は、イネのストレス防御機構における感染特異的タンパク質-3(pathogenesis-related protein-3, 以下PR-3)キチナーゼアイソザイムの生物学的機能の解明に取り組むとともに、遺伝子の突然変異に起因する内因性ストレスが宿主ゲノムの遺伝的多様性の拡大に及ぼす効果を解析したものである。得られた結果の概要は以下のとおりである。 1. データベース検索とPCRによって、イネゲノム中には、12種のPR-3キチナーゼ遺伝子座 (<i>Chl1</i>~<i>Chl12</i>) が7種の染色体上に分散して存在することを明らかにした。また、12のイネPR-3キチナーゼのドメイン構造に基づく新たな分類法(クラスI、IIおよびIVに大別した後、キチン結合ドメイン(CBD)の有無によりさらに細分類)が、PR-3キチナーゼの系統学的解析結果を十分に説明し得ることを示した。 2. いもち病斑を形成した葉身では、<i>Chl9</i>を除く5つのクラスIキチナーゼ遺伝子 (<i>Chl1</i>、<i>Chl2</i>、<i>Chl3</i>、<i>Chl10</i>および<i>Chl12</i>) の発現量が顕著に上昇することを明らかにした。また、<i>Chl2</i>および<i>Chl12</i>は、これまでにPRタンパク質の発現を誘導することが知られているいずれのシグナル伝達物質にも応答しないことを明らかにした。 3. CHT1 (クラスI+ CBD)、CHT4 (クラスIV- CBD)、およびCHT5 (クラスIV+ CBD) を、GST融合タンパク質発現系を用いて精製した。<i>Trichoderma viride</i>を用いて、これらの抗菌活性を調査したところ、CHT1は、CHT4およびCHT5と比較して、約20倍高い抗菌活性を有することが明らかになった。また、これらの酵素学的特性を解析したところ、CHT4およびCHT5は、CHT1と比較して、高いキチナーゼ活性を有することが明らかになった。 4. イネ活性型トランスポゾン<i>mPing</i>が品種銀坊主において高い転移活性を有していることに着目し、銀坊主由来の突然変異系統における<i>mPing</i>の転移頻度を調査した。その結果、<i>Rice ubiquitin-related modifier-1</i>遺伝子(<i>Rurm1</i>)の機能を喪失している細粒突然変異系統IM294およびその準同質遺伝子系統において、<i>mPing</i>の転移頻度が上昇することを明らかにした。また、RURM1は、E1(ユビキチン活性化酵素)様酵素RUBA4と相互作用し、細胞質型tRNAの硫黄修飾に関与すること、および<i>Rurm1</i>の機能喪失は、細粒化のみならず、短稈化、出穂遅延、稔性低下および発芽率低下など種々の生育異常を引き起こす内生ストレスになっていることを明らかにした。 5. 以上の結果を総括して、いもち病菌やその他の病原菌に対する防御機構においてクラスIキチナーゼが主要な役割を担っており、その発現制御には新規のシグナル伝達経路が存在することを指摘した。また、宿主ゲノムは、外因性ストレスのみならず内因性ストレスによってもトランスポゾンを活性化し、種を絶滅から守るために遺伝的多様性を獲得していることを証明した。			

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

植物は、高度な代謝制御機構を有しており、種々のストレスに対して耐性や抵抗性を示す。ストレスは、個体の生育に負の効果を及ぼす一方で、集団における遺伝的多様性を高め、進化を促す要因でもある。本論文は、イネのストレス防御機構における感染特異的タンパク質-3(以下PR-3)キチナーゼアイソザイムの生物学的機能の解明に取り組むとともに、遺伝子の突然変異に起因する内因性ストレスが宿主ゲノムの遺伝的多様性に及ぼす効果を解析したものである。本論文の評価すべき点は以下のとおりである。

1. データベース検索とPCRによって、イネゲノム中には、12種のPR-3キチナーゼ遺伝子座 (*Cht1*~*Cht12*) が7種の染色体上に分散して存在することを明らかにした。また、12のイネPR-3キチナーゼのドメイン構造に基づく新たな分類法が、PR-3キチナーゼの系統学的解析結果を十分に説明し得ることを示した。

2. いもち病斑を形成した葉身で*Cht9*を除く5つのクラスIキチナーゼ遺伝子(*Cht1*、*Cht2*、*Cht3*、*Cht10*および*Cht12*)の発現量が顕著に上昇していることを認め、クラスIキチナーゼが、イネ植物体に、いもち病菌に対する局所獲得抵抗性を付与していることを指摘した。また、*Cht2*および*Cht12*は、これまでにPRタンパク質の発現を誘導することが知られているいずれのシグナル伝達物質にも応答しないことを認め、PR-3キチナーゼのいもち病感染特定の発現には新規のシグナル伝達経路が存在することを指摘した。

3. CHT1 (クラスI)、CHT4およびCHT5 (ともにクラスIV)を、GST融合タンパク質発現系を用いて精製した。CHT1は、CHT4およびCHT5と比較して、約20倍高い抗菌活性を有すること、CHT4およびCHT5は、CHT1と比較して、高いキチナーゼ活性を有することを明らかにした。このことから、CHT1は病原菌類に対する生体防御機構上重要な役割を果たし、CHT4およびCHT5は抗菌活性以外の生物学的機能に関与していることを明らかにした。

4. *Rice ubiquitin-related modifier-1*遺伝子(*Rurm1*)の機能喪失によって、トランスポゾン*mPing*の転移頻度が上昇することを明らかにした。また、RURM1は、E1(ユビキチン活性化酵素)様酵素RUBA4と相互作用し、細胞質型tRNAの硫黄修飾に関与すること、および*Rurm1*の機能喪失は、細粒化のみならず、短稈化、出穂遅延、稔性低下、発芽率低下など種々の生育異常を引き起こす内生ストレスになっていることを示した。

以上のように、本論文は、いもち病菌やその他の病原菌に対する防御機構においてクラスIキチナーゼが主要な役割を担っていること、および内生ストレスを受けた宿主ゲノムは、種を絶滅から守るためにトランスポゾンを活性化し、遺伝的多様性を高めることを明らかにしたものであり、植物育種学のみならず、植物遺伝学、進化生物学、および植物生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成22年2月15日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。
要旨公開可能日： 年 月 日以降