

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	阪本 駿太
論文題目	イネ科植物における非タンパク質性アミノ酸 (R)-β-チロシンの輸送，生合成，および分布に関する研究		
（論文内容の要旨） 植物は 250 種類以上の非タンパク質性アミノ酸を産生し，これらは植物の多彩な化学的防御戦略の一翼を担っている．かつてわれわれは，アジアの栽培イネ（<i>Oryza sativa</i> L.）ジャポニカ品種を対象としたメタボロミクス解析を通して，これまではバクテリアだけがもつと考えられてきた非タンパク質性アミノ酸 (R)-β-チロシンおよびその生合成酵素 tyrosine aminomutase OsTAM1 を植物界から新規に同定した．しかし，(R)-β-チロシンのイネにおけるおもな蓄積部位である地上部での動態，TAM・(R)-β-チロシンがイネジャポニカ品種に局在する遺伝的背景，およびイネ以外の植物におけるこれらの分布はいまだ不明である．植物界で新規に見つかった非タンパク質性アミノ酸 (R)-β-チロシンの輸送，生合成，および分布の解明は，(R)-β-チロシンの起源，進化，さらには生態学的役割の理解を深めると期待される．そこで本研究では，分析化学と分子生物学的手法を組み合わせ，その解明を目指した． 第 1 章の序論に続く第 2 章では，(R)-β-チロシンの地上部における役割に関する基礎的な知見を得るために，その動態に着目した．まずイネ地上部における葉ごとの (R)-β-チロシン蓄積量およびその生合成活性を測定した結果，(R)-β-チロシンはイネ新葉に蓄積する一方，生合成活性は成熟葉で高いとわかった．そこで，イネは成熟葉の (R)-β-チロシンを新葉へ長距離輸送して蓄積すると仮説を立てた．この仮説を検証するため，新たに β-チロシン化学合成法を確立し，その安定同位体ラベル化物を用いたトレーサー実験から，長距離輸送を介した (R)-β-チロシンの新葉への集約を証明した． 第 3 章では，TAM1，(R)-β-チロシンがイネジャポニカ品種に局在する遺伝的背景の解明を目指した．本研究では，アジア栽培イネの直接祖先である野生イネ <i>O. rufipogon</i> に着目した．<i>O. rufipogon</i> には 3 つの亜集団 Or-I, II, III が存在し，このうち Or-III が栽培化されてジャポニカ品種が誕生したこと，および古代ジャポニカ品種が Or-I と交雑してインディカ品種が誕生したことがわかっている．そこで，Or-I, III 110系統の PCR および LC/MS 分析により，TAM1 の有無および (R)-β-チロシン蓄積量を評価した．その結果，TAM1・(R)-β-チロシンは亜集団 Or-III のうち，ジャポニカ品種の直接祖先である Or-IIIa に局在し，Or-I ではほとんどみられなかった．以上より，TAM1，(R)-β-チロシンがジャポニカ品種に局在する遺伝的背景として，Or-IIIa に局在する TAM1・(R)-β-チロシンがジャポニカ品種に受け継がれた一方，古代ジャポニカ品種と Or-I の交雑により生じたインディカ品種には受け継がれなかった可能性を示した．また，本章では世界の野生イネにおける TAM1・(R)-β-チロシンについても調査し，これら酵素および非タンパク質性アミノ酸がこれまで考えられてきたよりもイネにおいて系統的，地理的に広く分布していることも明らかにした． 第 4 章では，イネ以外の植物における TAM および (R)-β-チロシンの分布を明らかにするため，まずイネ科植物 23 種の LC/MS 分析を行なった．その結果，トウモロコシおよびエンバクからあらたに β-チロシンを同定した．また，キラル分析からアミノ基の立体化学は R-体であるとわかった．さらに，安定同位体ラベル L-チロシンを用いたトレーサー実験から，トウモロコシは L-チロシンの分子内アミノ基転移，			

すなわち TAM 活性で (R)- β -チロシンを生合成するとわかった。そこで、イネの (R)- β -チロシン生合成酵素 OsTAM1 のアミノ酸配列をクエリーとして相同性検索を行なった結果、トウモロコシの phenylalanine ammonia lyase (PAL) である Zm00001d033286 がもっとも高い相同性を示した。そして、この酵素を *Nicotiana benthamiana* で異種発現させたところ、(R)- β -チロシンを生合成した。以上より、Zm00001d033286 がトウモロコシの (R)- β -チロシン生合成酵素であると明らかにした。これは植物界で 2 例目の TAM となった。そこで、イネ科植物における TAM 遺伝子の進化を調べるため、イネ科植物の TAM および PAL 配列の系統解析を行なったところ、イネ・トウモロコシ共通祖先がすでに TAM 祖先遺伝子を獲得していたと示唆された。つまり、TAM 祖先遺伝子はこれら 2 種が分岐したイネ科誕生初期から存在した可能性がある。最後に、トウモロコシにおける (R)- β -チロシンの生態学的役割として、アフリカでトウモロコシ栽培に甚大な被害を与える根寄生雑草 *Striga hermonthica* に対する抵抗性を検証した。その結果、トウモロコシの根における濃度で (R)- β -チロシンがストライガの生育を阻害すると明らかにした。

第 5 章では、本研究で明らかにした TAM, (R)- β -チロシンの分布およびストライガに対する生育阻害活性をもとに、アフリカにおけるイネ栽培でも (R)- β -チロシンがストライガ防除に寄与する可能性を示した。さらに、系統解析から明らかになった TAM 祖先遺伝子の進化をもとに、イネ科植物に対して (R)- β -チロシンが生育阻害を示さない背景についても考察した。また、TAM, (R)- β -チロシンの分布とこれらの生態学的役割を今後の研究でリンクさせる必要があることにも言及した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 3 8 字×3 6 行で作成し、合わせて、3, 0 0 0 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、4 0 0 ～ 1, 1 0 0 words で作成し

審査結果の要旨は日本語 5 0 0 ～ 2, 0 0 0 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

かつて、tyrosine aminomutase TAM を介した非タンパク質性アミノ酸 β -チロシンの生合成はバクテリアに限られると考えられていたが、当研究室では栽培イネのジャポニカ品種から植物界では初となる生合成酵素 TAM および (*R*)- β -チロシンを同定した。本論文では更に、ジャポニカ品種における (*R*)- β -チロシンの輸送の詳細に加え、イネ科植物における生合成・分布などの進化的側面にも着目し、分析化学を軸に分子生物学的手法も取り入れながらこれらを解明した。評価できる点は以下の通りである。

1. β -チロシン化学合成法をあらたに確立し、それを用いたトレーサー実験により、長距離輸送を介した (*R*)- β -チロシンの新葉への集約を明らかにした。
2. (*R*)- β -チロシン、OsTAM1 がイネジャポニカ品種に局在する遺伝的背景の解明を目指して、栽培イネの直接祖先である野生イネ *O. rufipogon* に注目した。その結果、Or-IIIa に局在する (*R*)- β -チロシンおよび TAM1 がジャポニカ品種に受け継がれた一方、古代ジャポニカ品種と Or-I の交雑により生じたインディカ品種には受け継がれなかった可能性を示した。
3. 広範なイネ科植物を対象に (*R*)- β -チロシンの探索を行い、あらたにエンバクとトウモロコシから (*R*)- β -チロシを検出し、トウモロコシの (*R*)- β -チロシン生合成酵素を同定した。さらには、(*R*)- β -チロシンがトウモロコシに寄生する雑草ストライガの生育を阻害すると明らかにし、化学生態学の観点からも有意義な発見をした。

以上のように、本論文は栽培イネのジャポニカ品種から新規に見つかった非タンパク質性アミノ酸 (*R*)- β -チロシンの輸送、ジャポニカ品種に局在する遺伝的背景の解明に加え、イネ科植物全体にも視点を広げて (*R*)- β -チロシン・TAM の起源、進化、およびその生態学的役割について新たな知見を与えた。これは、化学生態学・植物生理学・農薬科学の分野の発展に寄与するところが大い。

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、令和 7 年 1 月 22 日、論文並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。

また、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することと支障がある場合は、以下に公表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（学位授与日から 3 ヶ月以内）