

氏 名	野 村 泰 治
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1412 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	Studies on benzoxazinone biosynthetic genes in the tribe Triticeae (コムギ族植物におけるベンゾキサジノン生合成遺伝子に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教授 西 岡 孝 明 教授 遠 藤 隆 教授 佐 藤 文 彦

論 文 内 容 の 要 旨

ベンゾキサジノン (Bx) 類は主にイネ科植物が蓄積する二次代謝産物であり、病原菌に対する抗菌活性、害虫に対する摂食障害活性や毒性を示す。コムギ族植物は 6 倍性植物であるパンコムギ、パンコムギの祖先 2 倍種、ライムギおよびオオムギを含む植物群であり、染色体構成、遺伝子構成および遺伝子塩基配列は族内の植物種間でよく保存されている。しかし、コムギ族に属する植物種は遺伝的な相同性を保持しているにもかかわらず、Bx 類の有無や蓄積様式には種間多様性が見られる。本論文はコムギ族植物における Bx 生合成経路を同定した上で、族内の主要植物種について生合成遺伝子座、Bx 類の蓄積様式および生合成遺伝子の発現様式を詳細に解析し、コムギ族植物の種形成の過程における Bx 生合成系の動態を明らかにしたものである。その主な内容は以下のとおりである。

1. パンコムギから 5 種の Bx 生合成遺伝子 cDNA (*TaBx1*-*TaBx5*) を単離した。これらを酵母に異種発現させることによって、*TaBx2*-*TaBx5* はトウモロコシの BX2-BX5 酵素と同一の反応を触媒するシトクロム P450 酵素をコードしていることを示した。
2. 6 倍性植物であるパンコムギの染色体置換系統、染色体腕欠失系統および染色体部分欠失系統などの異数体系統を用いた RFLP 分析により、パンコムギ染色体における *TaBx1*-*TaBx5* 遺伝子座の物理マッピングを行った。その結果、*TaBx1* と *TaBx2* 遺伝子が第 4 同祖染色体 (4A, 4B, 4D) で、*TaBx3*-*TaBx5* 遺伝子が第 5 同祖染色体 (5A, 5B, 5D) でそれぞれクラスターを形成していることがわかった。パンコムギの A, B, D の各ゲノムに対応する 3 種の祖先 2 倍種のサザン分析によって、5 種の *TaBx* 遺伝子はいずれの 2 倍種においても 1 コピーずつ存在していることが分かった。この結果からゲノムが形成される倍数化の過程で各 2 倍体ゲノム上の Bx 生合成遺伝子座は保持されてきたものと推定された。また、ライムギでは *TaBx1* と *TaBx2* 遺伝子は第 7 染色体に、*TaBx3*-*TaBx5* 遺伝子は第 5 染色体に分散して座乗していることや、オオムギが Bx 類を生成、蓄積しないのは 5 種の Bx 生合成遺伝子全ての欠失によるものであることを明らかにした。
3. *TaBx* 遺伝子全てについて、パンコムギの 3 ゲノムに由来する同祖遺伝子 cDNA を 3 種ずつ単離した。同祖遺伝子特異的なプライマーによって染色体腕欠失系統のゲノム PCR を行い、同祖遺伝子特異的な増幅が可能であることを示すと同時に、各同祖遺伝子の由来ゲノムを同定した。さらに、*TaBx* 遺伝子の発現レベルにはゲノム間で差異が見られることや、その発現様式は植物組織や生育時期によっても異なっていることを明らかにした。各同祖遺伝子の生育段階による発現レベルの変化は、パンコムギの 3 種の祖先 2 倍種における Bx 類の蓄積量の変化と対応していた。このことから、パンコムギにおける A, B, D の各ゲノム上の Bx 生合成遺伝子の発現は、ゲノムごとに制御されており、倍数化後も祖先 2 倍種での発現様式を反映していることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ベンゾキサジノン (Bx) 類は抗菌活性や摂食阻害活性等の生理活性を有する二次代謝産物であり、多くのイネ科植物に

構成的に存在している。パンコムギ、ライムギおよびオオムギなどのコムギ族植物においては多くの遺伝的な共通点がみられるが、Bx生合成系に注目するとBx類の有無、蓄積量および蓄積するBx類の主要化合物には種間で多様性が存在する。本論文は、コムギ族植物の種形成の過程におけるBx生合成系の変遷を明らかにするため、6倍性植物であるパンコムギ、パンコムギの祖先2倍種、ライムギおよびオオムギにおけるBx生合成遺伝子座とその発現、およびBx類の蓄積様式について詳細に解析したものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. パンコムギから5種のBx生合成遺伝子 (*TaBx1-TaBx5*) を単離した。*TaBX2-TaBX5* 酵素を酵母に異種発現させて、これらがトウモロコシのBX2-BX5酵素と同一の反応を触媒するシトクロムP450酵素であることを示した。これにより、パンコムギをはじめとしたコムギ族植物においても、Bx類はトウモロコシと同一経路で生合成されていることを明らかにした。

2. パンコムギ染色体異数体系統を用いたRFLP分析によって、A, B, Dの全ゲノムにおける *TaBx1-TaBx5* 遺伝子の座乗染色体領域を同定した。5種のBx生合成遺伝子がクラスターを形成しているトウモロコシに対して、パンコムギでは第4および第5同祖染色体へ分散していた。また、ライムギにおいても生合成遺伝子座が第7および第5染色体上へ分散していることや、オオムギは5種の生合成遺伝子を全て欠失しているためにBx類を生成しないことも明らかにした。

3. *TaBx1-TaBx5* 遺伝子の同祖遺伝子を各3種ずつ単離し、同祖遺伝子間の一塩基多型を利用したプライマーによるゲノム特異的PCR系を確立した。その系を定量RT-PCRに応用することで、同祖遺伝子の発現レベルを個別に定量することに成功した。*TaBx* 遺伝子の発現レベルはゲノム間で異なっており、その発現様式は生育時期や植物組織の違いによっても影響を受けることを明らかにした。また、パンコムギ発芽期における各同祖遺伝子の発現レベルの経時変化とパンコムギの祖先2倍種におけるBx蓄積量の経時変化との間に相関があることを見いだした。この結果から、パンコムギにおける各ゲノムのBx生合成遺伝子の発現は、祖先2倍種での発現様式を反映したものであることを示した。

以上のように本論文は、Bx生合成に関わる一連の遺伝子の単離、遺伝子座の同定を行い、コムギ族植物におけるBx生合成系の変遷過程を推定すると同時に、パンコムギにおけるBx生合成遺伝子の発現レベルを同祖遺伝子ごとに分離して解析することにより、パンコムギの6倍性のゲノム構成におけるBx生合成系の発現様式の全体像を初めて明らかにしたものであり、生物有機化学、植物遺伝学、植物生理学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16年2月13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。