



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Jasmonates in the model lycophyte <i>Selaginella moellendorffii</i> : biosynthesis, metabolism, and functions [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	PRATIWI, PUTRI
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12876号
Issue Date	2017-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67757
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Putri_Pratiwi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）	氏 名	Putri Pratiwi
審査担当者	主査	教授	松浦 英幸
	副査	教授	橋床 泰之
	副査	講師	高橋 公咲

学位論文題名

Jasmonates in the model lycophyte *Selaginella moellendorffii*:
biosynthesis, metabolism, and functions
(イヌカタヒバにおけるジャスモン酸類の同定および機能解析)

本論文は英文 133 頁，図 37，表 4，7 章からなり，参考論文 1 編が付されている．

植物ホルモンの 1 種であるジャスモン酸 (JA) は，植物のストレス応答，老化の促進および形態形成等に関与している．近年，JA シグナル伝達経路が解明され，その主要なシグナル分子は JA とイソロイシンの縮合体 (JA-Ile) であることが判明した．これらは花成植物の研究から明らかにされた．その一方で，最初の陸上植物であるコケ植物は，JA を生産せず JA 中間体の 1 種である 12-オキソファイトジエン酸 (OPDA) がシグナル分子として機能している．しかし，植物進化の過程において JA がシグナル分子として生合成されるようになった時期は不明であった．本研究では，植物の進化においてコケ植物と花成植物の中間に位置するシダ植物のモデル植物であるイヌカタヒバ (*Selaginella moellendorffii*) の JA 類の内生量の分析，生合成および生物活性を調べ，その結果をまとめたものである．

1) OPDA, JA および JA-Ile の分析

イヌカタヒバを 80% メタノール水溶液で抽出し，ultra performance liquid chromatography (UPLC-MS/MS) で分析した．その結果，イヌカタヒバにおいても JA および JA-Ile が検出され，植物がシダ類に進化することで両化合物が生合成されるようになったと推測された．また，花成植物と同様にイヌカタヒバにおいても傷害ストレスが OPDA, JA および JA-Ile の内生量を増加させていた．

2) JA および JA-Ile 生合成酵素の解析

リポキシゲナーゼ (LOX)，アレンオキシドシンターゼ (AOS) およびアレンオキシドシクラーゼ (AOC) および OPDA レダクターゼ (OPR) は，重要な JA 生合成酵素である．また，JA-Ile は JA-Ile 合成酵素 (JAR1) により合成される．これらの酵素活性は，花成植物においては詳細に調べられている．ゲノムデータベース解析の結果，イヌカタヒバのゲノム中にも上記の酵素遺伝子がコードされていることが判明した．それらをクローニングし，大腸菌を用いて組換えタンパク質を作製し，

酵素活性を測定した。その結果、イヌカタヒバの AOS, AOC, OPR および JAR1 は、いずれも酵素活性を有することが明らかとなった。本結果から、花成植物と同様にイヌカタヒバにおいても、JA および JA-Ile はオクタデカノイド経路により生合成されることが証明された。

3) 傷害ストレスおよび JA 処理による JA 生合成酵素遺伝子の発現解析

花成植物では、傷害ストレスおよび JA 処理により JA および JA-Ile 生合成遺伝子の発現が上昇する。これらの処理をしたイヌカタヒバでも、AOC および OPR の遺伝子発現が上昇した。本結果から、イヌカタヒバにおいても傷害ストレスにより誘導された JA がシグナル分子として機能していることが判明した。

4) JA-Ile の代謝物の分析

JA-Ile は、チトクローム P450 により 12 位が酸化され、その不活性化体である 12-OH-JA-Ile および 12-COOH-JA-Ile となる。JA-Ile の酸化反応は、JA シグナルの活性化の制御の観点から非常に重要である。UPLC-MS/MS を用いてイヌカタヒバの 12-OH-JA-Ile および 12-COOH-JA-Ile を分析した。その結果、いずれの化合物も検出され、イヌカタヒバにおいても JA-Ile の酸化による JA シグナルの制御機構が機能している可能性が示唆された。

5) OPDA, JA, JA-Ile および 12-OH-JA-Ile のイヌカタヒバの生育に対する効果

イヌカタヒバを OPDA, JA, JA-Ile および 12-OH-JA-Ile で処理し、その生育に与える影響を調べた。その結果、OPDA, JA および JA-Ile は、花成植物と同様にイヌカタヒバの生育を阻害した。その一方で、12-OH-JA-Ile の生育阻害作用は、JA-Ile より弱いことが判明した。従って、12-OH-JA-Ile は JA-Ile の不活性化体であることが明らかとなった。

以上、本研究結果から、シダ植物はシグナル分子として JA および JA-Ile を生産していることが明らかとなった。さらに、植物進化の過程において維管束形成が JA および JA-Ile の生合成および JA シグナル機能伝達機構の獲得に深く関与していることが推測された。以上の成果は、植物の進化およびストレス応答研究に大きく寄与するものである。

よって審査員一同は、Putti Pratiwi が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。