



Title	イネにおけるトレハロース誘導抵抗性に関する分子生物学的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	手塚, 大介
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13587号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/73975
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Daisuke_Tezuka_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 手塚 大介

審査担当者 主査 教授 森 春英
副査 教授 松浦 英幸
副査 助教 佐分利 亘
副査 主席研究員 今井 亮三（農研機構）

学位論文題名

イネにおけるトレハロース誘導抵抗性に関する分子生物学的研究

本論文は和文 158 頁，6 章からなり，図 42 および表 9 を含む．参考論文 2 編が付されている．

トレハロース（ $\text{Glc } \alpha\text{-1-1 } \alpha\text{-Glc}$ ）は幅広い生物に見られる単純なグルコ二糖であるが，各種物性への関与，タンパク質・細胞・組織等の保持機能，生体ストレス保護機能等から，近年注目される糖質である．高等植物では微量にしか含まれず，その生理機能には不明な点が多い．モデル植物であるイネでは，根部のトレハロース処理により，根部での防御関連遺伝子の発現と，地上部でのイネいもち病抵抗性が誘導される．このトレハロースによる全身誘導型の抵抗性を Trehalose-induced systemic resistance (TSR) と称する．本研究は，イネにおけるこの TSR の機構解明を目的として，植物ホルモンの関与を中心に分子生物学的解析を行い，TSR の分子機構のモデルを提唱したものである．

1) 植物ホルモン関与の解析

TSR における植物ホルモンの関与が解析された．根部トレハロース処理後，病害関連植物ホルモン，すなわちジャスモン酸（JA），JA-イソロイシン（JA-Ile）およびサリチル酸（SA）が根部で速やかに増加した．これら植物ホルモンと TSR 現象との関係は，イネ変異体 2 種，JA 生合成変異株（*hebiba*）および SA 分解酵素過剰発現株（*NahG*）を用いて解析された．TSR 早期に根部で誘導される転写因子遺伝子 10 種のうち，1 種以外は発現消失がみられ，3 種は *hebiba* のみ，3 種は *NahG* のみ，3 種は両方で誘導されなかった．従って TSR において根部での遺伝子発現は主として JA 類と SA のホルモンシグナル制御下にあること，並びにこれらと独立した誘導系も存在することが示された．地上部での抵抗性獲得は *NahG* でのみ損なわれたことから，SA シグナルに依存し，JA シグナルの寄与は小さいことが示された．

2) トレハロース蓄積量改変株における TSR 様現象の解析

トレハロース高蓄積株として，トレハロース分解酵素遺伝子 *OsTRE1* の変異株を CRISPR/Cas9 により作出した．本変異株では，トレハロース分解活性の低下，根部・

地上部におけるトレハロースの高蓄積が確認されたが、根部での TSR 様の遺伝子発現は明確には観察されなかった。従って TSR の誘起には、細胞内の高濃度トレハロースではなく、細胞外トレハロースが必須であると考えられた。TSR のトレハロース特異性を考慮すると、細胞膜上の受容体等を介したシグナル伝達の可能性が残された。

3) トレハロース誘導性転写因子 *OsERF83* の機能解析

TSR における JA シグナルに関し、根部で JA 制御下の転写因子 *OsERF83* の機能が解析された。細胞内局在解析、転写活性化能の評価、および DNA 結合能の評価から、GCC コア配列を認識する正の転写因子としての機能が明らかとなった。また *OsERF83* 過剰発現株を作出して、制御下の遺伝子が決定された。これには TSR 誘導性の複数の抗菌タンパク質遺伝子が含まれており、TSR の根部では、JA シグナルが転写因子 *OsERF83* を介して抗菌タンパク質の発現制御を行うと予想された。

4) トレハロース誘導性ファイトアレキシン生合成遺伝子の解析

TSR の根部では、ファイトアレキシン (PA) 生合成遺伝子群の発現が誘導される。このうち PA 生合成遺伝子 *OsKSL4*, *OsKSL7* が JA シグナル制御下にあることが示された。また、JA シグナル依存的遺伝子として *OsKSL2* が同定された。*OsKSL2* は、偽遺伝子とされていたが、本研究で初めて全長 cDNA が単離された。*OsKSL2* は *ent*-CDP を基質に *ent*-beyerene を生成する機能型のタンパク質をコードしていた。*ent*-beyerene とその誘導体は抗菌活性を有する PA であり、TSR の JA シグナルは、根部における *beyerene* 型 PA の生産も制御すると考えられた。

以上に基づき、TSR の分子機構として以下の推定モデルを提唱している。すなわち、根部に添加されたトレハロースは細胞膜上の受容体などにより認識され、細胞内にシグナルを伝達し、根部での JA 類と SA 蓄積を誘導する。JA シグナルは根部局所的な防御応答に関わり、PA 合成系の発現や、転写因子 *OsERF83* を介して抗菌タンパク質を生産する。一方 SA シグナルは、根部での遺伝子発現誘導に寄与するだけでなく、地上部のイネいもち病抵抗性すなわち全身誘導性の防御応答に関わる。

以上、本研究は、イネにおける TSR に注目し、トレハロースによる TSR の誘起から、根部での植物ホルモンを介した防御応答、ならびに地上部へのシグナル伝達まで幅広く明らかにし、TSR ならびに植物ホルモンのシグナル伝達についての理解促進に大きく寄与したものである。

よって審査員一同は、手塚 大介氏が博士（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。