

氏名	目黒 あかね
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第3918号
学位授与の日付	平成21年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	内生放線菌 <i>Streptomyces padanus</i> AOK30 が誘導する宿主植物の ストレス耐性に関する研究
論文審査委員	教授 白石 友紀 教授 一瀬 勇規 准教授 豊田 和弘

学位論文内容の要旨

ツツジ科木本植物であるカルミア (*Kalmia latifolia* L.) から分離した内生放線菌 *Streptomyces padanus* AOK30 (以後、AOK30 と略記) を定着させた組織培養カルミア苗は、葉枯れ病や根腐病に対して耐病性を示した。AOK30 定着苗には、苗の赤色化、細胞質浸透圧の上昇、細胞壁構成成分の変化やリグニン化促進、耐塩性化などの現象が認められたことから、AOK30 定着苗は耐病性や環境ストレス耐性が向上していることが示された。そこで、AOK30 定着苗のストレス耐性獲得の仕組みを解析するために、SSH (Suppression Subtract Hybridization) 法により発現が変動するカルミア遺伝子を単離した。Blast 検索によって機能を推定した結果、発現が増加する遺伝子の 1/4 は一次代謝や酸化還元に関連し、AOK30 の定着によってカルミア苗の一次代謝や酸化還元状態が大きく変動することが示唆された。また、発現増加遺伝子には、既知の防御関連タンパク質 (グルカナゼや抗菌性タンパク質) 以外にも NADH の再生産やリグニン生合成に関与する酵素の遺伝子が含まれており、上記の耐病性の獲得現象と符合する。また、防御応答関連遺伝子とともに、一群の *glutathione S-transferase* (*GST*) 遺伝子の発現が増加することも判明した。*GST* 遺伝子の発現を半定量的に RT-PCR で解析した結果、AOK30 処理後、5 日目から発現が増加し、少なくとも 17 日目まで維持された。さらに、AOK30 定着苗に病原菌を後接種すると、その発現は維持ないし促進されることも明らかとなった。これらの結果は、*GST* 遺伝子が AOK30 定着による耐病性の向上に深く関連する可能性を強く示唆する。

そこで、カルミアから RACE 法によって *GST* 遺伝子の全長 cDNA を単離し、それらの AOK30 定着苗における応答について詳細に解析した結果、カルミアには少なくとも 7 種の *GST* が存在し、いずれも接種後早期から発現が誘導されるが、病原菌接種苗との比較から、このうちの *KIGST5* が放線菌に特異的に応答して誘導されることが示された。一般に、植物の *GST* は内外の環境因子 (植物ホルモンや病原菌の攻撃など) に応答して転写レベルから増加し、細胞内での有害物質の解毒や酸化ストレスの軽減などの役割を担うとされている。本論文では、既報の結果と合わせ、カルミアにおける内生放線菌による定着とその後に獲得される様々なストレス耐性における *GST* 遺伝子の役割について考察した。

論文審査結果の要旨

本研究は、カルミア (*Kalmia latifolia* L.) の内生放線菌 *Streptomyces padanus* AOK30 (AOK30) を定着させた苗において、耐病性や環境ストレス耐性が向上することを明らかにし、本機構の解明を目指したものである。AOK30定着苗は、カルミアの重要病害である葉枯病や根腐病に対して耐病性を示すこと、また、苗の赤色化 (アントシアンの蓄積)、細胞質浸透圧の上昇、細胞壁構成成分の変化やリグニン化促進、耐塩性化などの環境ストレス耐性が向上していることを突き止めた。次に、SSH (Suppression Subtract Hybridization) 法により発現が変動するカルミア遺伝子を単離してBlast検索によって機能を推定し、発現が増加する遺伝子の1/4は一次代謝や酸化還元に関連することを示した。さらに、発現増加遺伝子には、既知の防御関連タンパク質 (グルカナーゼや抗菌性タンパク質) 以外にもNADHの再生産やリグニン生合成に関与する酵素の遺伝子が含まれており、上記の耐病性、耐ストレス性の獲得現象と符合することを突き止めた。また、防御応答関連遺伝子とともに、一群の *glutathione S-transferase* (GST) 遺伝子の発現が増加すること、さらに、AOK30定着苗に病原菌を後接種すると、それらGST発現は維持ないし促進されることも明らかにした。このように、本研究は、内生放線菌接種カルミアにおける耐病性、ストレス耐性獲得誘導の実態に加え、その獲得機構における生理学的、分子生物学的変動の意義について考察したものである。これらの研究成果は、レフェリー付きの原著論文4報 (参考論文)、関連論文として7報、また、4回の学会発表として公表されている。本研究は、植物内生放線菌の植物栽培における有用性の発見とその作用機構を解析した新規性のある秀でた内容であり、日本放線菌学会浜田賞 (若手奨励賞)、また、2度に渡り日本放線菌学会ポスター賞の栄に輝いている。

以上から、本研究論文は、博士 (農学) の学位に十分値すると判定した。