

# 論文内容の要旨

申請者氏名 Delfin Jay Camisora

ジャスモン酸イソロイシン (JA-Ile) は、植物の花成や傷害応答などに関わる植物ホルモンである。シロイヌナズナの JA-Ile 生合成では、ジャスモン酸 (JA) へのイソロイシン転移酵素遺伝子として、*AtJAR1* が特定されている。しかし、*AtJAR1* を欠失した *atjar1* 欠損変異体では、他の JA 欠損変異体が示す不稔の表現型を示さないことから、未同定の JA-Ile 合成酵素遺伝子が機能を相補していることが示唆されていた。

本研究では、シロイヌナズナの *AtJAR1* 以外のジャスモン酸イソロイシン転移酵素遺伝子として機能する遺伝子を特定するために、*AtJAR1* と最も配列相同性が高い遺伝子である *AtGH3.10* を新たなジャスモン酸イソロイシン転移酵素遺伝子の候補として、*in-vitro* および *in-planta* での機能解析実験を計画した。*AtGH3.10* の組換え酵素の活性試験の結果では、*AtGH3.10* は JA にイソロイシンや他のアミノ酸 (アラニン、ロイシン、メチオニン、バリン) を結合する活性を有することが示された。さらに、組換え *AtGH3.10* タンパク質は、組換え *AtJAR1* タンパク質よりも、これら 5 種類のアミノ酸に対する感受性が高かった。一方で、*AtJAR1* は *in-vitro* 反応では *AtGH3.10* よりも高い JA への親和性と比活性を有していた。ゲノム編集により *atgh3.10* 欠損変異体と *atgh3.10 atjar1* の二重欠損変異体を作製し、表現型観察を行った結果、*atgh3.10* 欠損変異体は *atjar1* 欠損変異体と同様に明瞭な表現型を示さなかったが、*atgh3.10 atjar1* 二重欠損変異体では花の形態異常や稔実率の低下など、JA 欠損変異体に特徴的な表現型が観察された。花器官における JA 類定量や JA 応答性遺伝子の発現解析から、二重変異体における JA-Ile 内生量の低下がその原因であることが示された。また、葉における傷害応答の比較解析では、*atgh3.10 atjar1* 二重欠損変異体は野生型コントロールや各単独欠損変異体に比べ、JA-Ile や他の JA アミノ酸誘導体の蓄積量、JA 応答性遺伝子の発現量が顕著に低下していることをみとめた。

以上の結果から、本研究において、*AtGH3.10* は JA-アミノ酸転移酵素であることを明らかにした。また、*AtGH3.10* は、植物体内で活性型 JA 誘導体である JA-アミノ酸共役体の生合成に関与し、傷害ストレス応答や花の発生生長を制御する酵素遺伝子として、*AtJAR1* と一部重複した機能をもつことで相補することがわかった。本研究で得られた知見から、今後は他の植物種において *GH3.10* のオルソログ遺伝子が JA イソロイシンの産生および調節機構に関与するかを解析することにより、植物の JA アミノ酸誘導体生合成経路とその機構を解明することができると考えられる。

やむを得ない事由 [ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Delfin Jay Camisora

本研究では、シロイヌナズナを用いた解析で、*AtJAR1* 以外の未同定であったジャスモン酸イソロイシン転移酵素遺伝子として、新たに *AtGH3.10* を特定した。*AtGH3.10* の組換え酵素活性実験では、*AtGH3.10* は JA にイソロイシンや、アラニン、ロイシン、メチオニン、バリンを転移する活性をもつことを生化学的に確認した。また、組換え *AtGH3.10* タンパク質は、組換え *AtJAR1* タンパク質よりも、これら 5 種類のアミノ酸に対する感受性が高かったことから、イソロイシン制限の反応条件下では *AtGH3.10* が *AtJAR1* よりも高い特異性を示すことが推察された。一方で、*in-vitro* 反応では *AtJAR1* は *AtGH3.10* よりも高い JA への親和性と比活性を示すことも確認した。*AtGH3.10* の植物体内での機能については、ゲノム編集により作製した *atgh3.10* 欠損変異体および *atgh3.10 atjar1* の二重欠損変異体について、表現型観察を行った。結果として、*atgh3.10* 欠損変異体は *atjar1* 欠損変異体と同様に明瞭な表現型を示さないことや、*atgh3.10 atjar1* 二重欠損変異体は花の形態異常や稔実率の低下など、JA 欠損変異体に特徴的な表現型を示すことを見出した。また、花器官における JA 類の定量や JA 応答性遺伝子の発現解析では、二重変異体における JA-Ile 内生量の低下をみとめた。さらに、葉における傷害応答の比較解析では、*atgh3.10 atjar1* 二重欠損変異体は野生型コントロールや各単独欠損変異体に比べ、JA-Ile や他の JA アミノ酸結合体の蓄積量、JA 応答性遺伝子の発現量が顕著に低下していることを確認した。本研究の解析によって、*AtGH3.10* が JA-アミノ酸結合酵素であることを明らかになった。さらに、*AtGH3.10* は植物体内で活性型 JA 誘導体である JA-アミノ酸共役体の生合成に関与することや、傷害ストレス応答や花の発生生長を制御する酵素遺伝子として、*AtJAR1* と一部重複した機能をもつことを明らかとした。

以上のように、本論文は植物における JA アミノ酸誘導体の産生に関わる新たな機能遺伝子を特定し、その役割を明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。

やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】