

Title	Molecular genetics of infection thread development, which is involved in the symbiosis between <i>Lotus japonicus</i> and <i>Mesorhizobium loti</i>
Author(s)	矢野, 幸司
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46998
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 矢 野 幸 司

博士の専攻分野の名称 博 士 (工 学)

学 位 記 番 号 第 20287 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

工学研究科応用生物工学専攻

学 位 論 文 名 Molecular genetics of infection thread development, which is involved in the symbiosis between *Lotus japonicus* and *Mesorhizobium loti*
(ミヤコグサと根粒菌との共生過程における感染糸形成に関わる分子遺伝学的研究)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 福 井 希 一

(副査)

教 授 小 林 昭 雄 教 授 原 島 俊 教 授 塩 谷 捨 明

教 授 卜 部 格 教 授 金 谷 茂 則 教 授 大 竹 久 夫

教 授 清 水 浩 教 授 関 達 治 教 授 仁 平 卓 也

論 文 内 容 の 要 旨

本研究ではミヤコグサと根粒菌との共生過程における感染糸形成に関わる因子を同定するために、感染糸形成突然変異体を選抜してその解析を行った。本論文は緒言（1章）、本文（2、3、4章）、総括（5章）より構成された。

第1章では本研究の背景と目的について記述した。

第2章では新規感染糸形成突然変異体 *Ljsym74-3*、*Lysym79-3*、*Ljsym80*、*Ljsym82*を選抜し、それらの表現型解析を行った。感染糸を観察した所、*Ljsym82*はカーリングした根毛に根粒菌が付着してコロナイズしていたが、感染糸の形成が阻害されているために根毛内に根粒菌が侵入できないか、侵入できても直ぐに感染糸の伸長が抑制されていた。一方、*Ljsym82*以外の変異体は表皮細胞で感染糸形成が阻害され、皮層細胞への感染糸の伸長が抑制されていた。各変異体のマッピングと相補試験を行った結果、*Ljsym74-3*、*Lysym79-3*、*Ljsym82*にはアレリックな変異体が存在するが、*Ljsym80*は新規の遺伝子座に座乗している事を明らかにした。

第3章では上記の変異体の中で、唯一感染糸形成が開始段階で阻害されていた *Ljsym82*の変異遺伝子の同定とその解析を行った。同定した遺伝子を *CYCLOPS* と名付けた。この遺伝子は推定 518 アミノ酸残基をコードし、タンパク質は核に局在することを明らかにした。遺伝子の発現とプロモーター活性の解析から、*CYCLOPS*は皮層の分裂が起こっている領域で発現誘導が起こり、それは成熟根粒内でも続いていることを明らかにした。また、恒常的に発現している *CYCLOPS*によって、根粒形成初期で発現が誘導される *LjNIN*や *LjENOD40*が制御されていることが示唆された。

第4章では *Ljsym74*のマッピング解析を行った。ミヤコグサのエコタイプの1種である Gifu と Miyakojima での大規模な組換え抑制の影響で、第1連鎖群の北端に座乗していた Gifu 由来の *Ljsym74-3*は、Miyakojima を交配相手としてポジショナルクローニングを行うことが非常に困難であった。そこで、ミヤコグサの近縁種であるパキスタン原産の *L. burtii*が *Ljsym74*の交配相手として利用できるかを調べた。F₂ 集団を用いたマッピング解析の結果、

第1連鎖群北端における大規模な組換え抑制は観察されなかったため、*L. burtii*を交配相手として、*Ljsym74*のマッピングを行った。その結果、*Ljsym74*の遺伝子座はマーカーBM1790BとTAC-ACGの間に座乗していることが示唆された。

第5章では本研究で得られた知見をまとめ、現在までに明らかとなっている共生メカニズムにおける本研究の位置づけを行った。

論文審査の結果の要旨

現在、マメ科植物と根粒菌との共生過程における、感染糸形成の遺伝的メカニズムはほとんど不明である。本研究ではそのメカニズムの一端を解明したものであり、得られた主な成果は以下の通りである。

- (1) マメ科モデル植物であるミヤコグサの共生突然変異体から、感染糸形成に異常がみられる変異体を新規に4種類選抜している。そして、その中の1変異体の変異遺伝子が、これまでに報告がない新規の遺伝子座に座乗している事を明らかにしている。
- (2) 上記で得られた4種類の変異体の中で、唯一感染糸形成が開始段階で阻害されていた *Ljsym82* の変異遺伝子を同定し、その遺伝子を *CYCLOPS* と名付けて解析している。この遺伝子は推定518アミノ酸残基をコードし、タンパク質は核に局在することを明らかにしている。遺伝子の発現とプロモーター活性の解析から、*CYCLOPS* は皮層の分裂が起こっている領域で発現誘導が起こり、それは成熟根粒内でも続いていることを示している。恒常的に発現している *CYCLOPS* によって、根粒形成初期で発現が誘導される *LjNIN* や *LjENOD40* が制御されていることを明らかにしている。
- (3) 変異遺伝子同定のための交配相手として一般的に利用されている、ミヤコグサのエコタイプの1種である Miyakojima では、その同定が困難な *Ljsym74* のポジショナルクローニングのため、ミヤコグサの近縁種であるパキスタン原産の *L. burtii* を利用できることを見出している。さらに、*L. burtii* を交配相手とすることで、*Ljsym74* の遺伝子座はマーカーBM1790BとTAC-ACGの間に座乗していることを明らかにしている。

以上のように、本論文はこれまでほとんど不明であった感染糸形成の遺伝的メカニズムについて、いくつかの重要な発見と新しい知見を得ている。これらは、今後の共生メカニズムの解明とその利用のために多大な貢献するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。