

(別紙様式第7号)

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1429 号	氏 名	Cynthia Nyambura Mugo-Mwenda
論文審査担当者	主査	松井 健二	印
	副査	山田 守	印
	副査	内海 俊彦	印
	副査	宮田 浩文	印
	副査		印
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は, 行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Arabidopsis hydroperoxide lyase gene: spatial temporal expression and the involvement of its metabolic products during Arabidopsis- Pseudomonas interaction (シロイヌナズナヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子: その時空間的発現様式とその代謝生成物のシロイヌナズナ-シュードモナス相互作用への関与)			
関連論文 (題目名が英文の場合は, 行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) 基礎となる学術論文			
題目: Spatial expression of the Arabidopsis hydroperoxide lyase gene is controlled differently from that of the allene oxide synthase gene (シロイヌナズナのヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子の発現様式はアレンオキシド合成酵素遺伝子と異なった制御下にある)			
著者名: Cynthia Mugo Mwenda, Atsushi Matsuki, Kohji Nishimura, Takao Koeduka & Kenji Matsui.			
学術雑誌名 巻・号・頁: Journal of Plant Interactions10:1, 1-10, doi: 10.1080/17429145.2014.999836			
発表又は受理: 発表			
発刊又は発刊予定年月: 2015年1月			
題目: Biochemical characterization of allene oxide synthases from the liverwort <i>Marchantia polymorpha</i> and green microalgae <i>Klebsormidium flaccidum</i> provides insight into the evolutionary divergence of the plant CYP74 family (苔類ゼニゴケと緑藻クレブソルミディウムのアレンオキシド合成酵素の生化学的解析による植物 CYP74 ファミリーの進化的多様性への洞察)			
著者名: Takao Koeduka, Kimitsune Ishizaki, Cynthia Mugo Mwenda, Koichi Hori, Yuko Sasaki-Sekimoto, Hiroyuki Ohta, Takayuki Kohchi, Kenji Matsui			
学術雑誌名 巻・号・頁: Planta, doi: 10.1007/s00425-015-2355-8			
発表又は受理: 発表			
発刊又は発刊予定年月: 2015年9月			

題目 : Glutathionylation and reduction of methacrolein in tomato plants account for its absorption from the vapor phase

(トマト植物におけるメタクロレインのグルタチオン化と還元が気相からのメタクロレイン吸収に寄与する)

著者名 : Shoko Muramoto, Yayoi Matsubara, Cynthia Mugo Mwenda, Takao Koeduka, Takuya Sakami, Akira Tani, Kenji Matsui

学術雑誌名 巻・号・頁 : `Plant Physiology; accepted for publication (June 13, 2015)

発表又は受理 : 受理

発刊又は発刊予定年月 : 2015 年 11 月

参考論文

題目 : *E-2-hexenal promotes susceptibility to *Pseudomonas syringae* by activating jasmonic acid pathways in *Arabidopsis**

(*E-2-ヘキセナール*はシロイヌナズナのジャスモン酸経路を活性化することで *Pseudomonas syringae* への感受性を増強する)

著者名 : Alessandra Scala, Rossana Mirabella, Cynthia Mugo, Kenji Matsui, Michel A. Haring and Robert C. Schuurink

学術雑誌名 巻・号・頁 : *Frontiers in Plant Science*, 4:74. doi: 10.3389/fpls.2013.00074.

発表又は受理 : 発表

発刊又は発刊予定年月 : 2013 年 4 月

題目 : The importance of lipoxygenase control in the production of green leaf volatiles by lipase-dependent and independent pathways

(リパーゼ依存・非依存経路でのみどりの香り生成におけるリポキシゲナーゼによる制御の重要性)

著者名 : Cynthia Mugo Mwenda, Kenji Matsui

学術雑誌名 巻・号・頁 : *Plant Biotechnology* 31 (5), 445-452

発表又は受理 : 発表

発刊又は発刊予定年月 : 2014 年 12 月

題目 : Establishment of an efficient screening system to isolate rice mutants deficient in green leaf volatile formation

(みどりの香り生成能を欠損したイネ変異体スクリーニングシステムの確立)

著者名 : Cynthia Mugo Mwenda, Kenji Matsui and Toshihiro Kumamaru

学術雑誌名 巻・号・頁 : Journal of Plant Interactions 6 (2-3), 185-186

発表又は受理 : 発表

発刊又は発刊予定年月 : 2011 年 12 月

(論文審査の要旨)

みどりの香りは炭素数6の揮発性アルデヒド類、アルコール類、およびそのエステル体の総称で、陸上植物に広く分布し、植食性動物や病原体に対する抵抗性発現に関与している。ヒドロペルオキシドリアーゼは植物のみどりの香り生合成経路の鍵酵素で、その活性変化が植物の生物学的ストレス抵抗性に寄与していると考えられてきた。本論文の第1章ではモデル植物シロイヌナズナでの本酵素遺伝子の発現様式について、レポーター植物を用いて検討した。

まず、シロイヌナズナヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子のアミノ末端領域を緑色蛍光蛋白質遺伝子の上流に融合し、パーティクル・ガン法でシロイヌナズナ葉表皮細胞において一過的発現させることで細胞内局在性を検討した。その結果、本酵素のアミノ末端領域は緑色蛍光蛋白質を色素体へと輸送する能力があることが明らかになった。生体内でヒドロペルオキシドリアーゼと同じ基質を競合すると考えられるアレンオキシド合成酵素も色素体局在であることが知られており、この両酵素が同じ細胞内小器官で発現しているとそれぞれの生成物の生成量を制御できないことが予想された。

そこで、シロイヌナズナヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子のプロモーター領域を大腸菌由来 β グルクロニダーゼ遺伝子と誘導し、アグロバクテリウムを介してシロイヌナズナに導入した。その結果、ヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子プロモーターは機械傷処理やジャスモン酸処理で強く誘導されるが、強い誘導は葉身の、特に周縁部で観察された。アレンオキシド合成酵素プロモーターも同様に機械傷やジャスモン酸処理で誘導されるがその誘導は維管束系周辺に集中しており、この観察結果からヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子とアレンオキシド合成酵素遺伝子は組織内発現様式を異にすることで基質の競合を避け、それぞれの生理活性生成物生成量を厳密に制御できていることが示唆された。この知見はGC-MSやHPLC-MS/MSを用いた代謝分析でも支持された。

一方、植物では植食性動物による食害に対する応答と細菌性病原体に対する応答を異なるシグナル経路で制御していることが知られている。最近になってこの2つのシグナル経路がクロストークしていることが示されてきたがその詳細は不明であった。そこで、第2章では食害時に生成されるみどりの香りが細菌性病原体に対する応答にどのように影響を与えているかについて検討した。

みどりの香り生成能を欠如したシロイヌナズナ変異体では*Pseudomonas syringae*に対する抵抗性が高まっていた。*P. syringae*を接種するとこの変異体では野生株に比べジャスモン酸生成誘導が抑えられ、一方でサリチル酸生成誘導が亢進していた。またジャスモン酸支配の*VSP2*遺伝子や*LEG*遺伝子の誘導も抑えられていた。そこで、みどりの香りのひとつ、*E*-2-ヘキセナールでこの変異体を前処理すると無処理区に比べ、*P. syringae*の増殖速度が高まっていた。このことからみどりの香りはジャスモン酸経路を介して*P. syringae*に対する感受性を高めていることが明らかとなった。

本論文は植物が様々な環境因子を受容し、適切に応答する仕組みについてみどりの香りとその生合成遺伝子に着目して検討したものであり、植物が複数のシグナル経路を精細に使い分け、その適応度を高めていることを示したものであり、学術的価値が高く、本学博士(生命科学)に相応しいものである。

(別紙様式第8号)

最終試験の結果の要旨

報告番号	甲 第 1429 号	氏 名	Cynthia Nyambura Mugo-Mwenda
論文審査担当者	主査	松井 健二	印
	副査	山田 守	印
	副査	内海 俊彦	印
	副査	宮田 浩文	印
	副査		印
<p>(最終試験の結果の要旨)</p> <p>最終試験ではレポーター系を用いた精細な検討により、シロイヌナズナヒドロペルオキシドリアーゼがアレンオキシド合成酵素と同様に色素体に局在しているが発現誘導された時に葉組織内での空間的発現様式を異にすることで各生合成経路を独自に制御できていることを明確に示した。また、みどりの香り生成能力を欠損したシロイヌナズナ変異体を用いた細菌性病原体感染実験によりみどりの香り生合成経路がジャスモン酸経路を活性化し、おそらくはサリチル酸経路を抑制することで細菌性病原体に対する感受性を高めることになることを明らかに示した。この結果は植物が食害と病原体感染に対する抵抗性を同時に発現することが不得意で、生物学的ストレス抵抗性の律速になっている可能性を示しており、今後、こうしたシグナル経路のクロストークを解除することで複数のストレスに対応できる植物の創成が期待される。</p> <p>最終の口頭試問では博士論文記載の上記の新知見を緻密に説明し、また、その後の質疑応答においても十分な回答を行った。</p> <p>このように本最終試験は高く評価されるものであることを確認した。</p>			