

論文審査の結果の要旨

氏名 後藤 幸久

植物は微生物共通構成成分である PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) を細胞膜に局在する PAMP 受容体で認識することにより病原菌の接近を感知し、PTI (PAMP-triggered immunity) と呼ばれる免疫応答を誘導する。一方で、病原菌は病原性タンパク質であるエフェクターを植物細胞内に注入し、PAMP 受容体や PTI シグナル伝達因子をターゲットとして PTI を阻害することで植物に感染する。PTI 応答として、植物は病原菌を認識すると感染部位特異的に迅速な活性酸素を生成することが知られている。この活性酸素生成には、鍵酵素である NADPH oxidase RBOHD (respiratory burst oxidase homologue D) が重要な役割を果たす。生成した活性酸素は、病原菌を直接的に攻撃するだけでなく、免疫応答のシグナル伝達物質として機能する。一方で、過剰に産生された活性酸素は、植物自身に損傷を引き起こす。以上のことから、活性酸素は植物にとって諸刃の剣であり、植物が必要な時、場所で必要な量の活性酸素を生成することは植物の生存に極めて重要であると考えられる。しかしながら、PAMP 誘導性の活性酸素生成の制御機構は未だ完全には明らかになっていない。

本論文は、PAMP 誘導性の活性酸素生成の制御機構、及び病原細菌エフェクターの PTI 抑制機構を分子レベルで明らかにすること、更には、圃場における病害防除に利用されている植物免疫誘導剤の作用機構を明らかにすることを目的として実験を行ったものである。本論文は4章からなる。第1章では、研究の背景として植物免疫の制御機構に関する知見がまとめられ、これと関連付けて研究の目的が記されている。また章末には参考論文が記載されている。第2章では、PAMP 誘導性免疫の制御機構に関するこれまでの知見が背景として記述された後、PAMP 受容体複合体の受容体キナーゼ、及びその結合因子である病原細菌エフェクターに関して詳細に解析した結果、及びその考察について記述されている。また本章末には、この解析に用いた材料と研究手法、及び参考論文が記載されている。第3章では、既知の植物免疫誘導剤と、その作用機構に関する知見が背景として記述された後、植物免疫誘導剤として用いられているグルタミン酸 (Glu) 誘導性免疫についての詳細な解析、及び結果が記されている。また章末にこの解析に用いた材料と手法、及び参考論文が記載されている。その後、研究全体の総括が第4章にまとめられている。

論文提出者は、PAMP 誘導性の活性酸素生成の制御機構を明らかにするため、PAMP 受容体と活性酸素生成酵素である RBOHD に着目し、これらと複合体を形成する構成因子の

同定、及びその構成因子の機能解析を行った。REAL1 (RBOHD-EFR ASSOCIATED LEUCINE-RICH REPEAT RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 1) は RBOHD、及び細菌が持つ翻訳伸長因子(EF-Tu) の認識に関わる PAMP 受容体である EFR (EF-Tu receptor)とともに共沈する複合体構成因子として同定された。シロイヌナズナの *real* 欠損変異体、及び *REAL1* 過剰発現体の機能解析によって、REAL1 は PAMP 受容体タンパク質量、及び PTI 応答を負に制御していることが明らかとなった。興味深いことに、以前の研究から病原細菌エフェクターHopF2_{pto} は、mono-ADP-ribosyltransferase (ART)をコードしており、植物内で発現させた際に REAL1 と結合することが示されている。この先行研究をもとに、論文提出者は HopF2_{pto} が REAL1 と同様に PAMP 受容体タンパク質量、及び PTI 応答を阻害していることを明らかにした。更に、HopF2_{pto} による PAMP 受容体タンパク質量の減少には、HopF2_{pto} の ART 活性が必要であった。これらの結果は、HopF2_{pto} が REAL1 を介して PAMP 受容体タンパク質量を減少させることで PTI 応答を阻害している可能性を示唆する初めての成果となった。

次に、論文提出者は、圃場での病害防除に PTI が有効であるか検証するため、植物免疫誘導剤である Glu 誘導性免疫の活性化機構について研究を行った。シロイヌナズナ植物体に Glu を処理することによって、Glu は病原菌に対する抵抗性を亢進した。同様に、Glu 処理したシロイヌナズナの実生を用いたトランスクリプトーム解析によって、Glu は既存の PAMP が誘導するよりも後期に PAMP 誘導性遺伝子発現を顕著に活性化することが示された。更に、Glu 処理による PAMP 誘導性遺伝子の活性化には、PAMP 受容体複合体構成因子、Glu 受容体、サリチル酸生合成酵素、及び Glu 脱炭素酵素が関与しないことが示唆された。これらの結果に加えて、Glu は PTI 応答を亢進した。以上の結果は Glu が PTI を新規な制御機構で活性化し、病原菌に対する抵抗性を亢進することを示す初めての成果となった。

なお、本論文に記載された研究は、Darrell Desveaux、Paul Derbyshire、Frank L.H. Menke、Jan Sklenar、Cyril Zipfel、五十嵐大亮、市橋泰範、北澤大典、槇紀子、松井英譲、中神弘史、門田康弘、白須賢との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上、ここに得られた結果の多くは新知見であり、いずれもこの分野の研究の進展に重要な示唆を与えるものであり、かつ本人が自立して研究活動を行うのに十分な高度の研究能力と学識を有することを示すものである。よって、後藤幸久提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。