

氏名	内藤 佳奈
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3661号
学位授与の日付	平成20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	タバコ野火病菌べん毛タンパク質フラジェリンの防御応答誘導活性とべん毛機能の解析
論文審査委員	教授 一瀬 勇規 教授 白石 友紀 教授 田原 誠

学位論文内容の要旨

タバコ野火病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (*Pta*) のべん毛を構成する主要タンパク質フラジェリンは非宿主植物に過敏反応を誘導するエリシターであり、糖鎖修飾を受けている。*Pta*を含むグラム陰性細菌のフラジェリンのN末端近傍はよく保存され、その22アミノ酸からなるflg22は多くの双子葉植物の自然免疫を誘導し、微生物が保持する特有の分子パターンMicrobe-associated molecular patternとして知られている。また、flg22の受容体としてFLS2がシロイヌナズナで同定されている。flg22は様々な防御応答を誘導するが、フラジェリンにはflg22とは異なる作用機作の存在が示唆されてきた。そこで本研究では、シロイヌナズナをモデル系として *Pta*のフラジェリンによる植物防御応答誘導機構を明らかにするとともに、flg22のべん毛機能における役割を解析した。

まず、さまざまなドメインを有するフラジェリンの組換えポリペプチドを発現させ、それらの防御応答誘導能解析により、*Pta*フラジェリンのエリシター活性にはflg22を含むN末端側のD0aドメインと、受容体FLS2の相互作用が必要であることが判明した。また、糖鎖修飾を受けるドメイン自体にはエリシター活性は見出せなかった。

次に、flg22のエリシター活性にはフラジェリンの43番目のアスパラギン酸が重要であることが予想されたため、このアスパラギン酸をバリン及びアラニンに置換した*Pta*を作成し、フラジェリンの防御応答誘導能を解析した。その結果、アミノ酸置換により著しく防御応答誘導能が低下したことより、*Pta*のフラジェリンのエリシター活性には43番目のアスパラギン酸が必要であることが明らかとなった。また、flg22に比べ、フラジェリンは強い防御応答誘導能を有すること、フラジェリンやflg22による防御応答誘導活性はFLS2を必要とすることが示された。一方、flg22アミノ酸置換株に由来するフラジェリンの防御応答誘導能は低下したにも拘らず、宿主タバコに対する病原性も低下した。この病原性の低下は、アミノ酸置換によりべん毛運動能が低下したためと推察された。これらのことから、植物は、病原菌の病原性に不可欠な分子パターンを自然免疫誘導のターゲットとして認識していると考えられた。

論文審査結果の要旨

植物病原菌など微生物の細胞表層物質や分泌物などは植物に認識され防御応答を誘導する微生物特有分子パターン (Microbe-Associated Molecular Patterns, MAMPs) として知られている。植物病原細菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* の場合、べん毛を構成するタンパク質フラジェリンが植物に防御応答を誘導するエリシターであること。また、フラジェリンはべん毛の内腔に位置するアミノ末端側 (D0a) とカルボキシ末端側 (D0b) は異なる細菌間においても保存性が高い。一方、べん毛表層に位置する D3 ドメインは可変領域で糖鎖修飾されている。本研究では、まずこれらのドメインを組み合わせたポリペプチドを大腸菌のタンパク質発現システムを用いて生産させ、エリシター活性を解析し、エリシター活性は D0a ドメインに存在することを明らかにしている。更に、D0a ドメイン中のペプチド配列 f1g22 が MAMP であり、その 43 番目のアスパラギン酸 (D43) がエリシター活性に重要であるとの最近の報告から、D をバリン (V) アラニン (A) に置換した変異株 (D43V, D43A) を作出し、細菌の性状を調べるとともに、変異株由来のフラジェリンを用いてエリシター活性を解析している。その結果、D43V, D43A に置換した変異株由来のフラジェリンのエリシター活性は低下し、防御応答を有意に誘導しないこと、D43V, D43A ではべん毛機能が欠損して、運動能ならびに病原性も低下したことを見いだしている。従来、MAMP となる配列は MAMP の存在する分子の活性から独立していると考えられていたが、本論文では、MAMP となる配列はその分子の活性に重要な配列であることを明らかにした点、すなわち、植物は病原細菌の病原性に必要な分子パターンを認識することを明らかにして点において、新規性が高いと言える。これらの成果は、植物病原菌の MAMP の位置づけを明らかにしたとともに、植物の免疫システムを解明する礎を築くものとして高く評価できるものである。よって、本論文は博士 (農学) に値する論文であると判断した。