

氏名	天野 政史
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4780号
学位授与の日付	平成25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	病原菌シグナルによる植物イオン変動の制御に関する研究
論文審査委員	教授 白石 友紀 教授 一瀬 勇規 准教授 豊田 和弘

学位論文内容の要旨

エンドウ褐紋病菌は、柄孢子発芽液中に防御応答を誘導する高分子糖タンパクエリシターを分泌することが判っている。エンドウ組織をエリシターで処理すると、ファイトアレキシン蓄積やPR-タンパク質の増加、感染阻害因子の生成などの防御応答が誘導されるが、本菌はエリシターによる抵抗性誘導を抑制する低分子糖ペプチドのサブレッサーを分泌して、宿主エンドウへの感染を成立させる。

これまでにエリシター認識直後から植物での初期応答は始まっていることが分かっており、イオン変動も防御応答の極初期過程に関連する現象と考えられているが、実際に病原体の攻撃を受ける組織での報告は殆どなかった。そこで、褐紋病菌の宿主植物であるエンドウおよび非宿主植物のササゲ組織を用いて、病害抵抗性とイオン変動との関係を解析した。エンドウまたはササゲ組織をエリシターで処理すると、数分以内に Na^+ 、 K^+ 流出および pH の上昇が顕著に認められたが、防御応答を抑制する阻害剤、イオノフォア、ナトリウムチャンネル阻害剤の共存下で抑制された。また、エリシターで誘導されるファイトアレキシン蓄積の薬剤感受性と一致したことからイオン変動と防御応答とは密接な関係があることも示唆された。本変動に対するサブレッサーの影響を調べたところ、エンドウ組織での Na^+ 、 K^+ 流出はサブレッサーが共存すると抑制されたが、ササゲ組織では抑制されないだけでなく、サブレッサー単独でも誘導される結果となった。しかしながら、pH に関しては、両組織ともサブレッサーにより抑制された。以上の結果から、エリシター誘導される Na^+ 、 K^+ 流出は褐紋病菌サブレッサーで種特異的な作用を受けることが判った。

近年の知見から、植物細胞壁に異物認識と応答するための装置が存在するところ判ってきた。そこで、分離細胞壁画分における Na^+ 、 K^+ 流出を調べたところ、組織での結果と同様にエリシターで誘導され、サブレッサーは種特異的に作用した。また、細胞壁での防御応答との関連について活性酸素生成を指標に調べた結果、バナジン酸や SHAM などの阻害剤に対する感受性が Na^+ や K^+ 流出の結果と一致したことから、細胞壁でのイオン変動と防御応答に、強い関連があることが示唆された。さらに、細胞壁 *aprase* 阻害剤の影響を調べた結果、組織・細胞壁からのイオン変動を抑制ことから、細胞壁 *aprase*、 Na^+ や K^+ 流出、そして病原菌シグナル（エリシター・サブレッサー）で制御される防御応答の重要な役割と関連が推察された。イオン変動を抑制する阻害剤は防御応答関連遺伝子の発現も抑制したことから、 Na^+ や K^+ 流出は防御応答に対して能動的に作用することが示唆された。

褐紋病菌エリシターやサブレッサーが細胞壁だけではなく、細胞膜 ATPase も制御するとの報告があることから、細胞膜におけるプロトン輸送能を解析した。人工膜を用いたエンドウ原形質膜 ATPase の再構成膜はプロトン輸送活性が認められ、本活性はサブレッサーにより抑制された。以上の結果から、病害抵抗性とイオン変動は密接な関係があること。また、植物細胞の最外層に位置する細胞壁に、第1段階の異物認識装置と応答装置の存在することを示すことができた。さらに、エンドウ褐紋病菌はサブレッサーを生産して、宿主細胞の恒常性維持を攪乱することで細胞内の機能を全面的に低下させ、病原菌に対する防御反応の発現を回避し、感染に成功することが推察できる。

論文審査結果の要旨

本論文は、エンドウ褐紋病菌の宿主および非宿主ササゲの分化組織及び分離細胞壁を用いて、病害抵抗性とイオン変動との関係を解析したものである。同氏はエンドウまたはササゲ組織を褐紋病菌エリシターで処理すると、数分以内に Na^+ , K^+ 流出および pH の一過的低下とその後の上昇が認められることを見出した。さらに、エンドウ組織での Na^+ , K^+ 流出はサプレッサーで顕著に抑制され、一方、非宿主ササゲの組織ではサプレッサー単独処理でも誘起されることを見出した。しかし、サプレッサーの pH 変動抑制作用には、宿主特異性は見出せなかった。このように、エリシター処理で誘導される Na^+ , K^+ 流出は、防御応答や感染誘導と同様に、褐紋病菌サプレッサーで種特異的に制御されることを明らかにした。さらに、 Na^+ , K^+ 流出を阻害したイオノフォアのナイジェリシン、モネンシン、またナトリウムチャンネル阻害剤の共存下では防御応答（ファイトアレキシン生合成）が抑制されることを発見した。さらに、イオン変動を抑制する阻害剤は防御応答関連遺伝子の発現も抑制することも見出した。このように、エリシターで誘導される Na^+ や K^+ イオン変動は、防御応答の薬剤感受性と完全に一致したことから、イオン変動と防御応答とは密接な関係があることを示唆している。同氏は、分離細胞壁画分からの Na^+ , K^+ 流出を調べ、組織で認められた結果と同様に、エリシターで誘導され、サプレッサーでは種特異的に抑制されることを発見した。さらに、細胞壁における活性酸素生成を調べ、バナジン酸や SHAM などの阻害剤に対する活性酸素生成の阻害と Na^+ や K^+ 流出の抑制が完全に一致することから、細胞壁に Na^+ や K^+ 流出のための装置があり、細胞壁活性酸素生成との間には強い関連があることを発見した。また、細胞壁 apyrase と Na^+ や K^+ 流出の関連を解析し、組織・細胞壁からのイオン変動が apyrase 阻害剤 NGXT191 で抑制されることも明らかにした。このように、病原菌シグナル（エリシター・サプレッサー）で制御される Na^+ や K^+ 流出と細胞壁 apyrase、防御応答の密接な関連性を世界で始めて明らかにした成果は大きい。以上の成果は、原著 3 報、6 回の口頭発表で公表されている。以上より、論文は博士（農学）の学位に値すると判断した。