

論文内容の要旨

申請者氏名 藤原 幹

植物は進化の過程で自身の免疫系を構築し、病原体の感染に対する抵抗性を誘導する。植物免疫の分子機構の理解は抵抗性作物の作製などに役立つと予想され、多くの研究者が研究を行う分野である。しかしながら、免疫信号伝達経路の全容は未だ分かっておらず不明な点が多い。そこで、申請者は、ペア抵抗性タンパク質(以下、ペア R タンパク質)による免疫機構の解明、および擬似病斑変異体による解析から植物免疫に寄与することが示唆されたセロトニンによる免疫機構の解明を試みた。

抵抗性タンパク質(以下、R タンパク質)は、細胞内受容体として機能し、種特異的な抵抗性を制御することにより、植物の抵抗性、罹病性を決定する因子である。これまでに同定されている R タンパク質の多くは中央に核酸結合(NB)ドメイン、C 末端領域にロイシンリッチリピート(LRR)ドメインを有する NB-LRR 型のタンパク質である。これまで、1 つの R タンパク質が対応する 1 つのリガンドを認識して免疫応答を誘導すると考えられてきたが、近年、異なる 2 つの R タンパク質が対をなして働くペア R タンパク質による免疫機構の存在が示された。しかしながら、ペア R タンパク質のタンパク質間相互作用や免疫誘導機構に関する報告はこれまでにない。申請者は、リガンドとして AVR-Pia を認識するペア R タンパク質 RGA4、RGA5 を用いて、ペア R タンパク質による免疫誘導の解析を試みた。その結果、生化学的な手法を用いた解析から RGA4 と RGA5 が複合体を形成することを明らかにした。RGA4 および RGA5 は主に細胞質に局在し、一部は核にも存在する。また、一過性発現系を用いた RGA4 と RGA5 の機能解析から、それぞれの R タンパク質は異なる機能を有しており、RGA4 が免疫応答を正に、RGA5 が RGA4 の機能を負に制御していることを見出した。RGA5 はこれまでに、AVR-Pia の受容体として機能することが報告されていることから、RGA4 と RGA5 は複合体を形成し、RGA5 はリガンドの認識、RGA4 は免疫誘導という異なる役割を担っていると考えられた。これらの発見は、ペア R タンパク質による免疫誘導機構を世界で初めて示したものである。

本研究室での先行研究から、抵抗性を亢進する擬似病斑変異体である *sl* 変異体の原因遺伝子(以下 *SL*)が、トリプタミンからセロトニンへの変換を触媒する遺伝子 P450 をコードすることが示されている。セロトニンは、動物の神経伝達物質として有名な化合物であるが、植物における生理機能はほとんどわかっていないことから、植物におけるセロトニンの生理機能を免疫に着目して解析した。*SL* は、免疫応答時に発現が上昇し、イネ培養細胞に対するセロトニン処理が防御関連遺伝子の誘導、細胞死を促進した。さらに、イネ植物体へのセロトニン処理はいもち病菌に対する抵抗性を亢進したことから、セロトニンは、植物免疫における正の因子であることが明らかになった。このセロトニンによる防御関連遺伝子の誘導は、イネの免疫に重要な因子である *OsRac1*、*Sti1*、*Gα* に依存することを見出した。以上の研究から、セロトニンがイネの免疫を亢進する新規の信号伝達物質であることを示した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名

藤原 幹

植物の限られたゲノムによってどのように多様な病原体を認識し、免疫を誘導するかは十分に理解されていない。1940年代、Flor博士は、植物の病害抵抗性は、単一の優性遺伝子によって制御され、植物の抵抗性遺伝子とそれに対応する病原体の非病原性遺伝子の組み合わせによって決定される「遺伝子対遺伝子説」を提唱した。その後、抵抗性遺伝子が実際にクローニングされ、多くの抵抗性遺伝子がNB-LRR型のタンパク質をコードしていることが明らかになった。近年、単独で働くと考えられていた抵抗性遺伝子が、異なる2つの抵抗性遺伝子でペアを形成して働く事例「ペア抵抗性遺伝子」が多く見出された。このペア抵抗性遺伝子による免疫機構が、植物が多様な病原体を認識して免疫反応を誘導するために重要であると推測されているが、その分子メカニズムはほとんど明らかになっていない。

申請者は、ペア抵抗性遺伝子 *RGA4*、*RGA5* を用いて、ペア抵抗性遺伝子による免疫誘導の解析を試みた。その結果、*RGA4* と *RGA5* は直接結合し、免疫受容体複合体を形成することを見出した、さらに、*RGA4* と *RGA5* はそれぞれ異なる機能を有しており、*RGA5* はリガンドの認識、*RGA4* は免疫誘導という異なる役割を担っていることを見出した。これらの発見は、古典的な遺伝子対遺伝子説では説明できず、ペア抵抗性遺伝子を構成する異なる2つの抵抗性遺伝子に役割の違いがあることを世界に先駆けて明らかにしたものである。申請者によって発見された、ペア抵抗性遺伝子による免疫制御メカニズムが、植物の限られたゲノムで多様な病原体を認識し、免疫を誘導するうえでコアとなるメカニズムの一つである可能性が高い。また、NB-LRR型遺伝子は、イネゲノム上に約600個存在し、最も数の多い遺伝子ファミリーの一つである。NB-LRR型遺伝子は、免疫だけでなく雑種致死や雑種弱勢の原因遺伝子としても同定されている。申請者が発見した、ペア抵抗性遺伝子のメカニズムが雑種致死や雑種弱勢に寄与していれば、これまで遺伝的障壁であった雑種致死や雑種弱勢などの克服が可能となり、新たな分子育種の創造も期待でき、今後の展開が期待される。

申請者は、さらに擬似病斑変異体である *sl* 変異体の解析から、セロトニンが植物免疫に関わる新規化合物であることを見出した。セロトニン処理により、防御関連遺伝子の発現が上昇し、イネいもち病菌に対する耐病性が上昇することを明らかにした。さらに、そのシグナル伝達機構の解明を試み、低分子量Gタンパク質 *OsRac1*、3量体Gタンパク質 *Gα*、コシャペロン *Sti1a* が関与することを見出した。しかしながら、実際の植物体でセロトニンがどの程度耐病性に寄与しているかは不明であり、今後の解析が期待される。

以上のように、本論文は植物免疫の分子機構を生化学、分子遺伝学、分子生物学、細胞生物学を用いて研究したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。