

論文内容の要旨

申請者氏名 田 中 則 子

Acidovorax avenae は単子葉植物を宿主とする植物病原細菌である。この菌には多くの菌株が存在するが、1つの菌株が感染できる植物種は限定されている。本論文は、本菌の宿主特異性の決定機構を解明するために、イネと *A. avenae* のイネ親和性菌株及び非親和性菌株を用いて行った一連の研究の成果を述べている。

本論文ではまず、*A. avenae* のイネに対する親和性・非親和性の決定と、イネの本菌群に対する抵抗性反応の誘導との関連を検討するため、イネ培養細胞を用いて、本菌群の接種時に起きる種々の反応を調べた。その結果、イネ培養細胞では、非親和性菌株の接種によって、核 DNA のラダー化やアポトーシス様の変化を伴う過敏感細胞死を誘導し、また、活性酸素の発生、病原菌抵抗性遺伝子とされる *EL2*, *PAL*, *Cht-1*, *PBZ1*, *LOX* を誘導した。一方、親和性菌株の接種によっては、これらの一連の抵抗性反応は、誘導されなかった。即ち、本菌の親和性、非親和性は、イネによる抵抗性反応の誘導に関与していることが明らかとなった。

次に、非親和性菌株がイネに抵抗性を誘導する物質、即ちイネによる非親和性菌株の認識物質を明らかにすべく、両菌株間特異物質として知られていた鞭毛タンパク質フラジェリンを精製し、イネ培養細胞に投与し、その反応を見た。その結果、非親和性菌株のフラジェリンのみが、*LOX* を除く上記の抵抗性遺伝子群の発現、及び、過敏感細胞死を誘導した。さらに、両菌のフラジェリン欠損株を作成し、それらの抵抗性誘導能を調べた。その結果、フラジェリンを欠損した非親和性菌株では、過敏感細胞死誘導、活性酸素発生の誘導、*EL2* の発現誘導は認められなくなったが、*PAL*, *Cht-1*, *PBZ1* の発現誘導は認められた。また、非親和性菌のフラジェリンを前接種した後、親和性菌株を植物個体に接種したところ、菌の増殖が抑制されていた。さらに、フラジェリンを欠損した非親和性菌株接種では、野生株に比較して、菌体数の増加が認められた。これらの事実は、非親和性菌株のフラジェリンが、イネに抵抗性反応を誘導し、本菌の増殖を抑制していることを示している、と同時に、フラジェリン以外の物質もこれらの抵抗性反応の誘導に関与していることを示している。

続いて、フラジェリンによる誘導される遺伝子群の全体像を明らかにするため、イネ cDNA マイクロアレーによる遺伝子発現解析を行った。その結果、非親和性菌株のフラジェリンによって特異的に誘導される多くの遺伝子群を同定した。また、親和性菌株と非親和性株を用いたマイクロアレーの結果、非親和性菌株では誘導されるが、そのフラジェリンでは誘導されない遺伝子群の存在を明らかにし、それらの機能をホモロジー検索で推定した。

以上、本論文は、*A. avenae* の宿主特異性の決定機構に非親和性菌株のフラジェリンが抵抗性反応誘導のための認識物質としてかかわっていることを初めて明らかにするとともに、フラジェリン以外の物質も抵抗性反応の誘導に関わっていることを明確に示したものである。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 田 中 則 子

植物は、環境中の多くの病原体と接触するが、いろいろな防御機構によって病原体に対する抵抗性を発現させ、病原体から身を守っている。それらの防御システムのうち破った病原菌が、一定の植物に感染し、病害を引き起こすことが出来ると言える。近年、植物病原菌の宿主特異性の決定機構の遺伝子支配については、多くの知見が蓄積されつつある。特に、菌株の *race* と宿主の *cultivar* との関係については、基本的に、*gene-for-gene* 説が適用可能であり、それらの遺伝子群の解析が進みつつある。しかしながら、菌株と植物種間での宿主特異性の決定機構には、一般にこうした説は適用できない。後者の宿主特異性がどのような機構で決定されているかを明らかにすることは、植物病原菌の病原性の理解と制御には必須である。こうした観点に立つとき、イネなどの単子葉植物を宿主とする *Acidovorax avenae* の菌株毎の宿主特異性はきわめて厳密であり、本菌株群とイネは、菌株と植物種間の宿主特異性の研究に、きわめて格好の材料となる。

本論文は、*A. avenae* の宿主特性の決定機構を明らかにするため、植物材料として、イネ培養細胞及び植物体を、また、病原菌株としては、イネに親和性の菌株と非親和性の菌株を用いて、イネの抵抗性反応の誘導機構を解析したものであって、序論と3章及び、総合考察からなる。

まず、序論において植物病原菌の宿主特異性の決定機構研究の現状及び、本研究で用いた菌株群の性質について解説した後、第1章では、イネは、非親和性菌株に対してのみ、過敏感細胞死、活性酸素発生、各種の抵抗性遺伝子の発現等の各種の抵抗性反応を誘導していることを示し、本菌の宿主特異性が、イネが本菌の菌株レベルの違いを認識して、抵抗性反応を誘導しうるかどうかによって決定されていることを示した。この事実は本研究の基礎となるものであって、親和性菌株と非親和性菌株の両方を比較しつつ解析している手法は、重要である。

続いて第2章では、両菌の菌株特異的物質として知られていたフラジェリンが多く、抵抗性反応を誘導することを、細胞レベルおよび遺伝子発現レベルで明らかにした。本成果は、フラジェリンが、イネの抵抗性反応の誘導に関わっていることを示した最初の例である。また、本研究によって、フラジェリン以外にも抵抗性を誘導する菌株特異的物質の存在を示唆した。このように、病原菌成分のうち、植物によって認識され、抵抗性反応を誘導する物質群の主要なものとしてフラジェリンの機能を明らかにし得たことは、大きな意義がある。

第3章では、イネ cDNA マイクロアレーを用いた解析によって、非親和性菌株のフラジェリンが特異的に発現誘導する多くの遺伝子群を同定した。また、フラジェリンに起因しないものの、非親和性菌株によって発現量が増大する遺伝子群も同定した。この結果は、今後の抵抗性発現のネットワーク解析の基礎を確立したものである。

本研究はまさに植物の自然免疫という概念の確立の過程にあったものであって、動物の自然免疫における病原菌のフラジェリン分子と同じような働きを、植物病原菌のフラジェリンが担っていることを明らかにしたことの意味は大きい。

以上のように、本論文は植物病原細菌 *Acidovorax avenae* のイネに対する抵抗性反応誘導機構について明らかにしたもので、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。