

学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名： 伊藤 慎
Name

学位論文題目： Tabtoxinine- β -lactamによる細胞死誘導機構の解明
Title of Dissertation

学位論文要旨：
Dissertation Abstract

タバコ野火病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (Pta) は非選択的毒素である tabtoxinine- β -lactam (T β L) を分泌し、宿主植物である *Nicotiana benthamiana* の葉に壊死病斑を形成する。T β L は植物のグルタミン合成酵素に作用し、細胞内に過剰なアンモニアを蓄積させることにより細胞死を誘導するが、その細胞死誘導機構は不明であった。しかしながら、近年、Pta が誘導する壊死病斑形成は遺伝的にプログラムされた自発的な細胞死 (Programmed cell death; PCD) であることを示唆する報告が成された。本研究では T β L による細胞死誘導機構の解明を目的とし、T β L 処理が PCD を誘導することを明らかにするとともに、ウイルス誘導型遺伝子サイレンシング法を用いた逆遺伝学的な解析により、*N. benthamiana* において T β L 誘導細胞死に関与する植物因子の探索を行った。

T β L 処理が PCD を誘導することを明らかにするため、*N. benthamiana* に T β L を処理し、植物における典型的な PCD である過敏感細胞死 (Hypersensitive response; HR) のマーカー遺伝子である *Hin1* の発現解析を行った。その結果、T β L 処理により顕著な *Hin1* の発現上昇が認められた。したがって、T β L は PCD を誘導することが示唆された。

分子シャペロン Heat Shock Protein 90 (HSP90) とそのコシャペロンとして機能する suppressor of G2 allele of *skp1* (SGT1) と Required Mla-12 Resistance (RAR1) は、植物-病原体相互作用における PCD の典型的な例である HR の誘導に広く関与することが報告されている。また、分子シャペロンである Heat Shock Protein 70 (HSP70) も病原体に対する HR に関与することが明らかとなっている。そこで、T β L 誘導細胞死への分子シャペロン HSP70 と HSP90 とそのコシャペロン SGT1 と RAR1 の関与を明らかにするため、ウイルス誘導型遺伝子サイレンシング法により *HSP70*、*HSP90*、*SGT1* および *RAR1* をそれぞれサイレンシングした *N. benthamiana* を作出し、T β L 処理を行った。その結果、*HSP70* サイレncing植物においてのみ壊死斑形成の顕著な抑制が認められた。また、細胞死の指標となるイオン漏出量の増大は、*HSP70* サイレncing植物の T β L 処理部位においては顕著に抑制された。以上の結果から、T β L 誘導細胞死に HSP70 が関連する植物細胞内情報伝達経路が関与することが示唆された。

PCD 誘導に関与することが報告されている植物ホルモンであるサリチル酸、ジャスモン酸およびエチレンとシグナル伝達に関わる活性酸素種、一酸化窒素およ

び mitogen-activated protein kinase (MAPK) カスケードの T β L 誘導細胞死への関与を解析したところ、いずれの因子においても T β L 誘導細胞死への関与は認められなかった。

上記の結果より、近年の植物における PCD 研究の成果は T β L 誘導細胞死に適用できないものと考えられた。そこで、T β L による細胞死がアンモニア毒性によるものであるという点に着目した。動物細胞では、アンモニア処理により cAMP を介した PCD が誘導されることが報告されている。また、様々な動物細胞において cAMP は PCD 誘導に関与することが報告されている。そこで、T β L 誘導細胞死への cAMP の関与を検討するために、cAMP 合成酵素であるアデニル酸シクラーゼをコードする遺伝子 *N. benthamiana Adenylyl cyclase (NbAC)* をサイレンシングした植物を作製し、T β L を処理した。その結果、対照植物と比較して *NbAC* サイレシング植物では壊死斑の形成、イオン漏出量の増大および *Hin1* の発現上昇が顕著に抑制された。以上の結果より、T β L 誘導細胞死に *NbAC* が関与することが明らかとなった。このことから、*NbAC* により合成される cAMP の T β L 誘導細胞死への関与が示唆された。

本研究により、T β L による細胞死誘導・壊死病斑形成は植物自身の因子である HSP70 と *NbAC* が関与する PCD であることを示した。一方、T β L による細胞死誘導は植物ホルモン等の特徴づけが進んでいる細胞死誘導機構とは異なる特性を有していると推察された。今後、T β L による細胞死誘導機構の解析により、新奇の細胞死誘導経路関連因子の同定を可能にすると考えられた。