

## 学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名： 中野 真人  
Name

学位論文題目： 青枯病菌—タバコ植物相互作用におけるリン脂質代謝経路  
Title of Dissertation の役割に関する研究

学位論文要旨：  
Dissertation Abstract

植物は病原体の攻撃から身を守るため、高度な免疫系を発達させてきた。例えば、植物は細胞膜上の受容体を介してフラジェリンやキチンといった微生物に特徴的な分子を認識し、活性酸素種（ROS）の生成や細胞壁におけるカロースの沈着などの一連の防御反応を誘導する。一方、病原体は分泌器官によりエフェクタータンパク質を植物細胞内へ輸送することで防御反応を抑制・回避し、感染を成立させると考えられている。

これまでに、一過的な遺伝子発現・抑制が簡便に行える *Nicotiana benthamiana* と Potato virus Xベクターを用いたウイルス誘導遺伝サイレンシング系により、植物免疫応答に関わる宿主因子のスクリーニングを行ってきた。本研究では、病害感受性機構を明らかにするため、青枯病菌に対して耐病性を獲得した *DS1* サイレンシング植物に着目した。

*DS1*の推定アミノ酸配列は、シロイヌナズナのホスファチジン酸（PA）ホスファターゼ（PAP）と相同性を示した。また、コムギ胚芽により合成した *DS1* タンパク質は *in vitro* で PAP 活性を示した。PAP はリン脂質の一つである PA の代謝に関わる酵素であり、酵母において細胞膜を構成する脂質の生合成、および脂質を介した細胞内情報伝達に関与することが示されている。一方、植物において PAP の機能に関する知見は限られており、とりわけ植物—微生物間相互作用における PAP の役割に関してはまったくの未知である。

リン脂質代謝における *DS1* の役割を明らかにするため、*DS1* サイレンシング植物に青枯病菌を接種してリン脂質含量を分析した。*DS1* サイレンシング植物では青枯病菌感染に対して PA 含量がコントロール植物の約2倍に増加した。一方、*DS1* サイレンシング植物に PA 生合成酵素の阻害剤を処理したところ、PA 含量がコントロールレベルにまで減少し、青枯病菌接種時に萎凋症状の進展が認められた。これらの結果から、*DS1* サイレンシング植物の耐病性は PA により誘導されることが示唆された。

PA は生物的・非生物学的ストレス応答時に生産され、ファイトアレキシンの生合成や細胞死の誘導など様々な細胞内応答を引き起こすことが報告されている。植物免疫機構における PAP の役割を明らかにするため、*DS1* サイレンシング植物に青枯病菌を接種して防御応答を解析した。*DS1* サイレンシング植物では、青枯病菌の感染に対して ROS の生成とジャスモン酸（JA）応答遺伝子 *PR-4* の発現量が増加した。一方、ROS の生合成因子 *NbrbohB* と *DS1* をダブルサイレンシングした植物において、ROS の蓄積量はコントロール植物と同程度まで減少した。また、JA の情報伝達因子 *NbCOII* と *DS1* をダブルサイレンシングした植物において、*PR-4* の発現量はコントロールレベルにまで低下した。さらに、*DS1/NbrbohB* サイレンシング植物と *DS1/NbCOII* サイレンシング植物では、青枯病菌接種に対してコントロール植

物と同様に萎凋症状が進展し、耐病性は認められなかった。これらの結果から、*DSI*サイレンシング植物の耐病性はROSとJA情報伝達経路を介して誘導されることが示唆された。

青枯病菌—*Nicotiana*植物間相互作用における*DSI*の役割を明らかにするため、*N. benthamiana*葉に青枯病菌を接種して*DSI*の発現パターンを解析した。*DSI*の発現量はモック処理によりほぼ一定の値で推移したが、青枯病菌接種により顕著に増加した。一方、青枯病菌のタイプIII分泌系欠損株を接種した*N. benthamiana*葉では、*DSI*の顕著な発現誘導は認められなかった。

*DSI*の発現量の増加が植物免疫機構に与える影響を明らかにするため、*DSI*高発現植物を作出し、青枯病菌感染時の表現型を解析した。*DSI*高発現植物ではPA含量がコントロールレベル以下に減少した。また、青枯病菌接種時に誘導されるROSの生成とPR-4の発現は、*DSI*高発現植物において顕著に抑制された。さらに、*DSI*高発現植物では青枯病菌の増殖と萎凋症状の進展が促進された。これらの結果から、*DSI*の発現誘導は防御応答を抑制し、耐病性を減弱されることが示唆された。

本研究の結果から、青枯病菌—*Nicotiana*植物間相互作用において、PAは防御応答に関わるROSとJA情報伝達経路を活性化し、抵抗性を誘導することが示唆された。また、*DSI*は内生のPA含量を減少させることにより、PAによって誘導される防御応答を負に制御することが示唆された。*Nicotiana*植物に侵入した青枯病菌はタイプIIIエフェクターにより宿主の*DSI*を活性化し、PAの介在するROSとJA依存的な防御応答を阻害することで、宿主への感染を成立させているものと推察された。