

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	大野 恵梨佳
論文題目	Studies on the plant immune system involving the PAMP receptor RLP23 in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナのPAMP受容体RLP23が関与する植物免疫機構に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>高等植物は、病原微生物特有のタンパク質の部分配列や糖の構造など、Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) と呼ばれる分子パターンを膜タンパク質であるパターン認識受容体によって認識することで免疫応答を活性化する。この防御応答をPAMP誘導免疫と呼ぶ。PAMP誘導免疫では様々な防御応答が誘導されるが、従来PAMPs認識以降のシグナル伝達経路や最終的な防御応答については共通性が高いと考えられてきた。しかし、近年になり、申請者自身の研究も含め、糸状菌や細菌、卵菌に広く保存されたPAMPであるnlp24と細菌のみが持つPAMPであるflg22の間で、シロイヌナズナ処理時に誘導される免疫応答に明らかな相違があることが見出されている。このことは従来の考えとは異なり、PAMP誘導免疫に多様性があることを示唆している。この多様性が生じる分子的背景を明らかにするためには、flg22誘導免疫経路とnlp24誘導免疫経路、両経路の分子機構の解明が必要である。しかしながらflg22と比較して、nlp24が誘導する免疫機構についての知見は未だ少ない。</p> <p>本研究では、近年同定されたnlp24のシロイヌナズナ受容体RLP23に焦点を当て、RLP23が起点となる防御応答経路とその生物学的意義の解明を目指した。さらにflg22の受容体であるFLS2の防御応答経路との比較解析より、PAMP誘導免疫の多様性の分子的背景の解明を目指した。</p> <p>第1章では、まず、PAMPの受容体であるRLP23とFLS2そのものに焦点を当てた。flg22の受容体であるFLS2が細胞質内にキナーゼドメインを有する受容体であるのに対し、nlp24の受容体であるRLP23はキナーゼドメインを持たない受容体である。flg22認識以降の免疫応答の誘導がFLS2のキナーゼドメインの機能に依存するため、RLP23の細胞外ドメインにFLS2キナーゼドメインを結合することで、nlp24処理時にflg22タイプの免疫応答が誘導されるという仮説を立てた。そこで、上記のキメラ受容体をシロイヌナズナrlp23変異体に導入した形質転換植物を作出した。この形質転換植物にnlp24を処理したところ、活性酸素の生成が確認され、RLP23にFLS2キナーゼドメインを結合した場合も、nlp24認識とそれに基づく免疫応答の誘導は可能であることを明らかにした。しかし、活性酸素の生成量はflg22処理時と比較して顕著に減少しており、RLP23にキナーゼドメインを付加するだけではflg22タイプの免疫応答は誘導できないことが明らかとなった。</p> <p>第2章では、PAMPs認識時にRLP23とFLS2どちらも複合体を形成することが知られている共受容体BAK1に着目した。bak1変異体及びそのホモログであるBKK1とBAK1の二重変異体であるbak1 bkk1変異体にnlp24とflg22を処理したところ、まずFLS2依存的な免疫応答にはBAK1が必須であることを明らかにした。一方、RLP23依存的な免疫応答においては、BAK1が必須の経路(活性酸素の生成)とBAK1が必須ではない経路(抗菌物質の合成など)の二種類が存在することを明らかにした。さらにnlp24の処理によって賦与される植物病原細菌 (<i>Pseudomonas syringae</i>) に対する抵抗性は、このBAK1が必須ではない経路に依存することを明らかにした。本結果より、nlp24誘導免疫経路とflg22誘導免疫経路の間でBAK1の果たす役割が異なることが明らかとなった。また、この相違が、両PAMPが誘導する植物免疫反応の違いの一因となっていることが示唆された。</p> <p>最後に、第3章では、植物の病害抵抗性におけるRLP23の寄与を評価するため、シロイヌナズナrlp23変異体に対して灰色カビ病菌 (<i>Botrytis cinerea</i>) の接種試験を行った。接種試験の結果、rlp23変異体において灰色カビ病菌に対する感受性が増大してい</p>			

ることを明らかにした。顕微鏡観察の結果、灰色カビ病菌はシロイヌナズナ野生型植物と比較して、*rlp23*変異体においてより早く侵入していることを発見し、PAMP受容体であるRLP23が灰色カビ病菌に対する侵入抵抗性に貢献していることを明らかにした。さらに、*nlp*配列を有する分泌タンパク質をコードする遺伝子を灰色カビ病菌が侵入前から発現していることを明らかにした。これらの結果は、シロイヌナズナRLP23は灰色カビ病菌のこの分泌タンパク質を侵入前に認識し、それによって防御応答を活性化することで、同菌への抵抗性に貢献していることを強く示唆した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

高等植物は、病原微生物に特有の分子パターン (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) を膜タンパク質であるパターン認識受容体によって認識することで免疫応答を活性化する。本防御応答はPAMP誘導免疫と呼ばれる。従来は、パターン認識受容体によるPAMPs認識以降のシグナル伝達経路や最終的な防御応答 (抗菌反応) については共通性が高いと考えられてきたが、近年になり、PAMP誘導免疫に多様性があることが見出されている。しかし、その多様性がどのように生じているかは全く不明であった。本研究においては、PAMPsの一つであるnlp24に対するシロイヌナズナの受容体RLP23が起点となる防御応答経路に焦点をあて、そのメカニズムおよび生物学意義をはじめて明らかにしている。さらに研究が進んでいるflg22 (細菌のPAMP) の受容体FLS2の経路との詳細な比較解析より、PAMP誘導免疫の多様性の分子的背景に関する重要な知見を得ることに成功している。本研究の評価できる点は以下の通りである

1. シロイヌナズナのPAMP受容体RLP23とFLS2のキメラ受容体を作成し、解析することにより、RLP23にFLS2のキナーゼドメインを付加しても受容体として機能する一方、キナーゼドメインを付加だけではflg22タイプの免疫応答は誘導できないことを明らかにした。
2. nlp24誘導免疫経路とflg22誘導免疫経路の間で共受容体BAK1の果たす役割が大きく異なることを明らかにし、この相違が、両PAMPが誘導する植物免疫反応の違いの一因となっていることを示唆した。
3. RLP23が灰色カビ病菌に対するシロイヌナズナの病害抵抗性に寄与することを明らかにし、さらに同菌のnlp24配列を含む分泌タンパク質を侵入前に認識し、防御応答を活性化していることを強く示唆した。

以上のように、本論文はシロイヌナズナのPAMP受容体であるRLP23が起点となる防御応答経路およびその生物学的意義を明らかにすることに成功している。さらに、高等植物のPAMP誘導免疫における多様性の分子的背景に関する重要な知見を得ることに成功している。これらの成果は、植物病理学、植物免疫学、微生物学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和5年2月20日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)