

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	Ayumi Kosaka
論文題目	Studies on postinvasive resistance of <i>Arabidopsis thaliana</i> against multiple fungal pathogens (複数の病原糸状菌に対するシロイヌナズナの侵入後抵抗性に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>微生物によって引き起こされる植物の病気のうち、70%以上が糸状菌(カビ)によるものであり、これはヒトの病気の大半がウイルスや細菌によって引き起こされているのとは対照的である。糸状菌の多くは自身が接着している植物表皮細胞の外壁を溶解し、そして穿つことで、内部への侵入、さらに続く進展を試みる。このような局所的な糸状菌の攻撃が成功するかどうかは、この侵略行動と連動して、対象植物の防御反応を抑制できるかどうかにかかっている。基本的に、植物は自身に適応していない(つまりその植物を宿主としない)病原糸状菌に対しては極めて頑強な生体防御反応を発揮する。このような抵抗性は非宿主抵抗性と呼ばれる。</p> <p>非宿主抵抗性は非常に頑強であり、その理由として、本抵抗性が、不適応型の病原糸状菌の物理的な侵入を阻止する抵抗性である「侵入抵抗性」と、侵入された場合に新たに活性化して菌の進展を防ぐ抵抗性である「侵入後抵抗性」から構成される多層構造をとることが挙げられる。つまり、侵入後抵抗性は植物の切り札的な生体防御反応であると言える。しかし、その分子機構については不明な点が多いのが現状である。本研究では、植物病原糸状菌の局所的侵入に対して活性化される侵入後抵抗性について、モデル植物であるシロイヌナズナと複数の植物病原糸状菌を用いて、その分子基盤を解析した。</p> <p>第1章では、不適応型菌であるクワ炭疽病菌に対するシロイヌナズナの侵入後抵抗性について検討した。シロイヌナズナにおいては、<i>PEN2</i>がコードする糖質加水分解酵素がその生合成に関わる抗菌物質が、本菌の侵入を防いでいるが、侵入抵抗性が突破された場合、侵入後抵抗性が活性化する。この侵入後抵抗性にはトリプトファン由来とする複数の抗菌経路が関与することが推定されていたが、クワ炭疽病菌の侵入後に、<i>P450</i>である<i>CYP71A12</i>が生合成に関わるインドール-3-カルボン酸とその類縁体(以下、<i>ICAs</i>と総称)の生合成が活性化されること、さらに<i>ICAs</i>がクワ炭疽病菌への侵入後抵抗性に関与することを明らかにした。</p> <p>第2章では、<i>CYP71A12</i>依存的な<i>ICAs</i>の合成が、他の植物病原糸状菌に対する侵入後抵抗性に関与する可能性について検討した。その結果、<i>ICAs</i>の合成が、アブラナ科野菜類炭疽病菌および炭疽病菌とは感染戦略が大きく異なるアブラナ科黒すす病菌に対する侵入後抵抗性にも関与することを発見し、これらより、本抗菌経路が異なる感染戦略を有する病原菌に対する侵入後抵抗性に広く関与することが示唆された。また、アブラナ科黒すす病菌に対する侵入後抵抗性は病原菌関連分子パターンの認識機構に関わる<i>BAK1</i>遺伝子の変異(<i>bak1-5</i>変異)の導入によって低下することを見出し、シロイヌナズナは病原菌侵入を、パターン認識受容体を介して感知することを明らかにした。しかしながら、<i>bak1-5</i>変異導入によっても、病原菌侵入時の<i>ICAs</i>の蓄積量は低下しないことが判明し、<i>bak1-5</i>変異によって減退する抗菌経路は、<i>ICAs</i>を含むトリプトファン由来の抗菌物質の産生経路ではないことが示唆された。続いて、<i>bak1-5</i>変異によって減退する抗菌経路を特定するために、マイクロアレイ解析による網羅的な遺伝子発現解析をおこなった結果、<i>bak1-5</i>変異によって<i>GLI1</i>、<i>PR2</i>など複数の抗菌性タンパク質遺伝子の発現が低下することを見出した。さらに続くRT-qPCR発現解析の結果、これらの遺伝子は病原菌侵入によって発現が上昇することが明らかとなった。以</p>			

上より、シロイヌナズナの侵入後抵抗性には、*bak1-5*変異に影響を受けないトリプトファン関連二次代謝物質の産生経路と*bak1-5*変異によって低減する抗菌性タンパク質産生経路が関与することが明らかとなった。

第3章では、侵入後抵抗性と抗菌性ペプチドである植物ディフェンシンの関係に焦点を当てた。まず、アブラナ科黒すす病菌の侵入時に、植物ディフェンシンをコードする*PDF1.2a*遺伝子の発現が顕著に上昇することを発見した。続いて、侵入後抵抗性時の*PDF1.2a*遺伝子の発現上昇にはタンパク質リン酸化酵素である*EDR1*と転写調節因子である*ORA59*が必要であることを明らかにした。さらに、*EDR1*遺伝子および*ORA59*遺伝子のシロイヌナズナ変異体への詳細な表現型解析より、植物ディフェンシンの発現がアブラナ科黒すす病菌への侵入後抵抗性に関与することを明らかにした。

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)

侵入後抵抗性は高等植物の切り札的な生体防御反応である。しかし、その分子メカニズムについては不明な点が多いのが現状であり、侵入後抵抗性の更なる理解は、植物と微生物の相互作用研究、植物免疫機構の研究において、重要な課題である。本研究においては、高等植物の侵入後抵抗性について、モデル植物であるシロイヌナズナと複数の植物病原糸状菌を用い、その分子機構の解明に取り組んでいる。その結果として、シロイヌナズナの侵入後抵抗性に関わるトリプトファン関連の新規の抗菌性二次代謝物質の産生経路を特定し、さらに、当該経路が広範な植物病原糸状菌に対する侵入後抵抗性に必要であることを示した。また、抗菌性二次代謝物質に加え、抗菌性のペプチドである植物ディフェンシンが侵入後抵抗性に関与することを示した。本研究の評価できる点は以下の通りである。

1. クワ炭疽病菌に対するシロイヌナズナの侵入後抵抗性には、P450であるCYP71A12によるインドール-3-カルボン酸とその類縁体の生合成が必要であることを明らかにした。
2. インドール-3-カルボン酸とその類縁体の生合成は、クワ炭疽病菌だけではなく、アブラナ科野菜類炭疽病菌、および炭疽病菌とは感染戦略が大きく異なるアブラナ科黒すす病菌に対する侵入後抵抗性にも関与することを明らかにした。
3. 侵入後抵抗性にBAK1依存的なパターン認識機構が関与することを明らかにする一方、この認識機構はインドール-3-カルボン酸とその類縁体の生合成の活性化には必須ではないことを示した。
4. 抗菌性の二次代謝物質に加えて、抗菌性ペプチドである植物ディフェンシンがシロイヌナズナの侵入後抵抗性に関与することを示した。

以上のように、本論文はこれまで不明な点が多かったシロイヌナズナの侵入後抵抗性に関わる新規抗菌経路を見出し、広範な植物病原糸状菌へのその有効性を示している。さらに、当該経路に加え、侵入後抵抗性に関わる複数の抗菌経路を明らかにしており、これらより、シロイヌナズナの侵入後抵抗性のアウトラインを提示しており、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、令和元年9月24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）