

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	Jinlian Chen
論文題目	Studies on fungal secreted proteins that activate plant immunity in <i>Colletotrichum</i> species (植物免疫を活性化する炭疽病菌の分泌タンパク質に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>植物病原性の糸状菌 (以下、植物病原菌) は、自身の宿主への感染のために、病原性に関係する様々なタンパク質を分泌する。このような分泌タンパク質として、細胞壁分解酵素や、エフェクターと総称されるタンパク質などが例としてあげられる。一般的に、エフェクターは植物免疫反応を抑制する機能を有しているが、もし、エフェクターが植物の監視システムにより見つけられた場合、植物は強力な抵抗反応を活性化し、この反応はしばしば植物の細胞死反応をとる。</p> <p>炭疽病菌 (<i>Colletotrichum</i>属菌) は、属全体として様々な植物に深刻な病害を引き起こすことが知られている。本研究では、植物免疫を活性化する炭疽病菌の分泌タンパク質に焦点を当て研究を実施した。炭疽病菌の中のウリ類炭疽病菌は、キュウリやメロンなどのウリ科作物に病害を引き起こすことが知られている。興味深いことに、本菌はナス科に属するベンサミアナタバコと呼ばれる植物にも感染し、病害を引き起こす。ウリ類炭疽病菌由来の保存性の高いエフェクターであるNLP1とNIS1を、ベンサミアナタバコにおいて一過的に発現させた場合、細胞死を誘導することが報告されており、このことは両エフェクターが植物免疫を活性化することを示唆している。しかしながら、両エフェクターがウリ類炭疽病菌の宿主であるウリ科作物においても細胞死を誘導するのかという点については不明であった。</p> <p>第1章では、エフェクターNLP1とNIS1のウリ科作物における細胞死誘導活性の有無について検討した。この目的のためには、エフェクターNLP1とNIS1をウリ科作物において一過的に発現させる必要があったが、ベンサミアナタバコとは異なり、タンパク質の一過的発現系はウリ科作物においては確立されていなかった。そこで、メロンの子葉を対象とした一過的発現系の確立を試み、条件検討の結果、効果的なタンパク質の一過的発現系の確立に成功した。この系を用いて、エフェクターNLP1およびNIS1をメロン子葉において一過的に発現させた。その結果、まず、NLP1はベンサミアナタバコと同様にウリ科作物であるメロンにおいても細胞死を誘導することを明らかにした。しかし、続いて実施したNLP1への様々な変異導入解析およびシグナルペプチドの欠失解析より、NLP1のメロンにおける細胞死誘導の分子的背景は、同分子のベンサミアナタバコにおける細胞死誘導のそれとは大きく異なることが示唆された。また、エフェクターNIS1に関しては、メロン子葉において一過的に発現させた結果、その細胞死は観察されず、NIS1はメロンに対する細胞死誘導活性は有していないことが明らかとなった。一方で、NIS1はメロンにおける植物免疫反応の抑制能は有していた。以上のように、エフェクターNLP1とNIS1の細胞死誘導活性は、ウリ類炭疽病菌が共通して感染するベンサミアナタバコとメロンの間で大きく異なっており、対象とする植物におけるタンパク質の一過的発現系確立の重要性が示唆された。</p> <p>第2章では、植物病原菌が分泌する細胞壁分解酵素と植物免疫の活性化の関連に焦点を当てた。エフェクターNLP1は本来はウリ類炭疽病菌の感染後期に発現することが知られているが、このNLP1を恒常的に発現するウリ類炭疽病菌を形質転換実験によって作出したところ、この形質転換体はウリ科作物の抵抗性を活性化してしまい、その感染に失敗することが報告されている。そこで、このような植物病原菌の分泌タンパク質による植物免疫の活性化は、エフェクターだけではなく、細胞壁分解酵素でも引き起こされる可能性について検討した。炭疽病菌の感染後期に発</p>			

現する細胞壁分解酵素をコードする遺伝子群を選抜し、これらの遺伝子を恒常的に発現するウリ類炭疽病菌を形質転換実験により作出した。その結果、ペクチンを分解すると推定される細胞壁分解酵素をコードする遺伝子を恒常的に発現させた形質転換体では、ベンサミアナタバコへの感染性の低下が見られた。一方、この形質転換体はウリ科作物への感染性は野生株と同等であり、このことより、当該細胞壁分解酵素の恒常的発現はベンサミアナタバコにおいて植物免疫を活性化することが示唆された。さらに、本現象は、ウリ類炭疽病菌だけではなく、アブラナ科野菜類炭疽病菌などにこの細胞壁分解酵素遺伝子のホモログを恒常的に発現させた場合においても観察された。以上の結果より、植物病原菌はエフェクターだけではなく、細胞壁分解酵素に関しても、宿主植物の免疫活性化を回避するために、その発現および分泌を適切に制御する必要があることが強く示唆された。

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)

植物病原菌は様々なタンパク質を分泌し、宿主植物への感染を可能にしている。しかし、植物側もこの分泌タンパク質への認識などを介して、細胞死を伴うような強力な免疫反応を活性化させる。しかし、植物病原菌のどのような分泌タンパク質が植物免疫反応を活性化するのか、不明な点が多い。本研究においては、まずウリ科作物におけるタンパク質一過的発現系を新たに開発し、この系を用いて、ベンサミアナタバコにおける細胞死誘導活性が見出されていた二つの炭疽病菌エフェクターNLP1とNIS1のウリ科作物における生物活性を明らかにすることに成功している。さらに、NLP1を恒常的に発現させた研究から、エフェクターの適切な発現の重要性が示されていたことを起点に、細胞壁分解酵素の発現制御の重要性について検討する研究を展開し、その結果、ペクチンを分解すると推定される細胞壁分解酵素の発現制御が、複数の炭疽病菌の感染戦略上、重要であることを発見している。本研究の評価できる点は以下の通りである

1. メロン子葉におけるタンパク質の一過的発現系の構築に新たに成功した。
2. 確立した発現系を用いて、NLP1のメロンにおける細胞死誘導活性を調べた結果、NLP1のメロンにおける細胞死誘導の分子的背景は、同分子のベンサミアナタバコにおける細胞死誘導のそれとは大きく異なることを示唆した。
3. NIS1はメロンに対する細胞死誘導活性は有していないことを明らかにした。
4. ペクチンを分解すると推定される細胞壁分解酵素の発現制御が、複数の炭疽病菌の感染に重要であることを明らかにした。本結果は、植物病原菌はエフェクターだけではなく、細胞壁分解酵素に関しても、宿主の免疫活性化を回避するために、その発現、分泌を適切に制御する必要があることを強く示唆した。

以上のように、本論文は植物免疫反応を活性化する植物病原菌の分泌タンパク質について、新たなタンパク質一過的発現系の構築、植物病原菌における恒常的発現株の作出、解析などより、植物病原菌の分泌タンパク質が有する植物免疫誘導活性の植物間における多様性、さらに細胞壁分解酵素の誤発現が感染戦略に与える負の影響を明らかにす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3年8月5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）