別紙４

報告番号	※　甲　第　　号

主　論　文　の　要　旨

論文題目　機械刺激センサーであるトライコームを介した

機械刺激誘導性の植物免疫応答に関する解析

氏　　名　松村　護

論　文　内　容　の　要　旨

植物病原微生物の感染は、雨によって媒介されることが知られている。例えば、罹病個体に雨粒が衝突し、飛沫を介して他の健全な植物へと伝播すること、また大気中に存在する病原細菌や糸状菌の胞子が雨粒中に含まれることも報告されている。こうした背景から、植物が雨を危険因子として認識し、来る病原体感染に備えるために免疫を活性化する可能性が考えられる。本研究では、雨は機械刺激誘導性の新規な植物免疫を誘導することを明らかにした。

シロイヌナズナ葉に、自然界で降る雨を再現した雨滴を処理し、RNA-seq 解析を行ったところ 1,050 の雨誘導性遺伝子群が検出された。Gene Ontology 解析から、雨誘導性遺伝子は免疫応答関連の遺伝子を有意に含むことが示唆された。興味深いことに、*TCH2* や *TCH4* などの機械刺激応答性のマーカー遺伝子群も多数検出された。そこで、ブラシ処理による機械刺激をシロイヌナズナ葉に与え、同様に RNA-seq 解析を行った結果、1,241 遺伝子が有意に発現上昇した。これら遺伝子群は、雨誘導性遺伝子の 87.3%と重複し、かつ発現の誘導度にも強い正の相関があることから、雨誘導性遺伝子の大部分は機械刺激によって誘導されることが示唆された。また、植物葉に対する雨と機械刺激処理のいずれもが、腐生性糸状菌である *Alternaria brassicicola* および寄生性細菌 *Pseudomonas syringae* に対する抵抗性を付与することを明らかにした。以上より、植物は雨を機械刺激として認識し、機械刺激応答性

の情報伝達経路を活性化することで免疫を誘導するのでないかと考えられる。

次に、雨および機械刺激誘導性の遺伝子群がどのように発現制御されているのかを明らかにするために、発現誘導遺伝子群のシス解析を行なった結果、Ca^{2+}-calmodulin 応答性転写抑制因子である CAMTA の結合配列 CGCG-box が有意に濃縮された。そこで、シロイヌナズナ CAMTA3 の標的遺伝子群を同定するため、ChIP-seq 解析を行った結果、雨および機械刺激誘導性の遺伝子群のうち 314 遺伝子の発現が CAMTA3 によって制御されていることを明らかにした。実際、CAMTA3 の Ca^{2+}非感受性変異体では、機械刺激誘導性の免疫は強く抑制された。

Ca^{2+}の細胞内流入が機械刺激誘導性の免疫に重要であることが示唆されたので、次に Ca^{2+}プローブである *GCaMP3* を導入した *35S:GCaMP3*/Col-0 植物を用いて、機械刺激受容時の Ca^{2+}動態を観察した。その結果、機械刺激によって、葉面に存在する毛状突起トライコームを中心としたカルシウムウェーブが誘導されることが明らかになり、機械的刺激は、トライコームに情報として集約され、2 次的に広く周囲へ伝達されることが示唆された。実際、トライコームを持たない *35S:GCaMP3*/*gl1* 植物においては、機械刺激を与えても野生型で観察されるカルシウムウェーブは生じなかった。さらに、*gl1* 植物を用いた RNA-seq 解析から、雨および機械刺激誘導性の遺伝子発現は強く抑制され、同免疫応答も誘導されないことが示された。

以上の結果より、トライコームは機械刺激感受性の細胞であり、雨などの機械刺激を感知するとカルシウムウェーブと CAMTA3 依存的な免疫応答を誘導することが明らかになった。この新規な免疫機構は、植物に広く保存されていると考えられることから、雨天という変動する環境に植物が適応するための重要な生存戦略であると言える。