

別紙1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

| | | | |
|------|---|---|---|
| 報告番号 | ※ | 第 | 号 |
|------|---|---|---|

氏 名 今野 沙弥香

論 文 題 目 ナス科植物の病害抵抗性における
分泌型ペプチドの機能に関する研究

論文審査担当者

主 査 名古屋大学准教授 竹本 大吾

委 員 名古屋大学教授 松本 省吾

委 員 名古屋大学教授 小鹿 一

委 員 名古屋大学教授 森 仁志

委 員 名古屋大学教授 松林 嘉克

委 員 名古屋大学教授 村瀬 潤

委 員 名古屋大学准教授 吉岡 博文

委 員 名古屋大学准教授 千葉 壮太郎

委 員 名古屋大学教授 佐藤 育男

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

病原性卵菌のジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) は、ジャガイモの最重要病害であり、世界中で深刻な被害をもたらしている。現在まで、ジャガイモ疫病菌抵抗性のジャガイモ品種の育種は、ジャガイモ疫病菌が持つ病原性因子の認識に関わる抵抗性遺伝子 (*R* 遺伝子) の導入が主流である。しかし *R* 遺伝子を用いた抵抗性は、新たな疫病菌系統の出現により短期間で打破されるという欠点がある。持続的なジャガイモ疫病菌防除法を開発するためには、ジャガイモ疫病菌に対する植物の抵抗性機構を明らかにすることが必要不可欠である。

本研究室では、ジャガイモ疫病菌に対して非宿主抵抗性を示すベンサミアナ (*Nicotiana benthamiana*) を用いてジャガイモ疫病菌抵抗性に関与する遺伝子の単離を行ってきた。ベンサミアナ約 3,000 株の遺伝子をランダムに発現抑制し、ジャガイモ疫病菌に対する抵抗性の調査を行い、抵抗性が低下した 82 株から 33 遺伝子を単離している。単離された遺伝子の中には、低分子の抗菌性物質ファイトアレキシンの生合成に関わる遺伝子が多数含まれており、ベンサミアナのジャガイモ疫病菌に対する非宿主抵抗性にはファイトアレキシンが中心的な役割を担っていることが示されている。またこれまでの研究から、ベンサミアナのエチレン応答性の転写制御因子がファイトアレキシン生合成遺伝子の発現を直接制御することが明らかとなっている。抵抗性関連遺伝子のスクリーニングで、抵抗性が低下した 82 株のうち 12 株から、分泌タンパク質 NbSAR8.2m をコードしている機能未知の *NbSAR8.2m* が単離された。*NbSAR8.2m* はジャガイモ疫病菌抵抗性に大きく寄与していると推定される。ベンサミアナゲノムからは *NbSAR8.2m* の相同遺伝子 *NbSAR8.2a*、*NbSAR8.2b*、*NbSAR8.2d* が見出されたが、それら *NbSAR8.2* 遺伝子群の植物-病原菌相互作用における機能は分かっていない。

本学位論文では、ベンサミアナのジャガイモ疫病菌抵抗性機構を明らかにし、その抵抗性機構をジャガイモに応用することを目的として解析を行った。

まずベンサミアナのジャガイモ疫病菌抵抗性に関与する遺伝子を網羅的に調査するため、ジャガイモ疫病菌由来の分泌性エリシタータンパク質である INF1 を処理したベンサミアナの遺伝子発現プロファイルを調査した。その結果、ベンサミアナの主なファイトアレキシンであるカプシジオールの前駆体合成に関与するメバロン酸経路の酵素遺伝子やカプシジオール生合成関連遺伝子群に加え、エチレン生合成酵素遺伝子が顕著に発現増加していることが示された。また、エチレン情報伝達に関与する APETALA2/Ethylene-responsive element binding factor (AP2/ERF) 型転写因子の発現パターンの解析から、ジャガイモ疫病菌抵抗性に関与している ERF を見出した。これらの結果から、ベンサミアナの病害抵抗性応答において、エチレン生合成と情報伝達系の活性化が重要な役割を担っていることが示された。

次に、*NbSAR8.2* 遺伝子群の機能解析を行った。*NbSAR8.2m* の発現誘導解析の結果、*NbSAR8.2m* は疫病菌感染時とサリチル酸処理時に発現誘導されることが明らかとなっ

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

た。また *NbSAR8.2m* 遺伝子は病原菌と遭遇する可能性が高い組織で発現誘導されることが示された。*NbSAR8.2m* 相同遺伝子の機能解析では、*NbSAR8.2b* および *NbSAR8.2d* が、ジャガイモ疫病菌に対する抵抗性には関与しない一方で、ショウガ疫病菌に対する抵抗性に必要であることを示した。*NbSAR8.2b* および *NbSAR8.2d* と *NbSAR8.2m* はシグナルペプチド以外の領域の相同性が低いことから、これらのタンパク質が異なる活性を持っている可能性がある。

NbSAR8.2m が植物-病原菌相互作用に及ぼす影響を網羅的に調査するため、ジャガイモ疫病菌感染時のベンサミアナ野生株と *sar8.2m* 破壊株の遺伝子発現を RNAseq によって比較した。ジャガイモ疫病菌接種後 24 時間では、疫病菌のエフェクター遺伝子の発現増加が顕著であった。一方で、感染後期の接種後 48 時間では、ベンサミアナのファイトアレキシン生合成酵素遺伝子の発現が低下し、カプシジオールの蓄積量も著しく減少していた。よって *sar8.2m* 破壊株では、ジャガイモ疫病菌がエフェクター分泌を活発に行った結果、ファイトアレキシン生成が抑制されていることが示唆された。

NbSAR8.2m の成熟型構造を明らかにするため、*NbSAR8.2m* を発現するシロイヌナズナを作出し、植物体の水中培養液からの *NbSAR8.2m* の検出を試みた。その結果、*NbSAR8.2m* の C 末近傍の 8 アミノ酸のペプチドが検出された。この 8 アミノ酸の *NbSAR8.2m* ペプチドのリフォールディング処理後に、その抗菌活性を調査した。その結果、*NbSAR8.2m* ペプチドの処理によってジャガイモ疫病菌の遊走子嚢の発芽と菌糸生育および植物病原性糸状菌の孢子発芽が阻害された。この結果から、*NbSAR8.2m* がジャガイモ疫病菌だけではなく、植物病原性糸状菌に対して抗菌活性を持つことが示された。

本研究から、エチレン制御下のファイトアレキシンとサリチル酸制御下の分泌型ペプチド *NbSAR8.2m* という 2 種類の抗菌性物質がベンサミアナの非宿主抵抗性を担っていることが示唆された。今後、*NbSAR8.2m* の作用機構を解明することで、ジャガイモ疫病菌をはじめとする植物病原菌が作物に及ぼす甚大な被害を大幅に減少させ、作物生産の向上に貢献できると考えられる。

以上のように、今野沙弥香はナス科のモデル植物であるベンサミアナのジャガイモ疫病菌をはじめとする *Phytophthora* 属病原性卵菌に対する抵抗性機構について、抗菌物質であるカプシジオールの生合成酵素遺伝子の発現制御および新規の抗菌性ペプチドである *NbSAR8.2m* の機能を解明した。これらの研究成果は、この学問領域に新たな知見を提供し、学術と応用の両面において植物病理学分野の進展に資するものである。よって、本審査委員会は本論文の内容が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。