

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 大津 美奈

論 文 題 目 二光子励起顕微鏡法による
ダイズシストセンチュウが誘導する
合胞体形成過程の時空間的解析

論文審査担当者

主 査 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
教授 博士(理学) 東山 哲也

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
教授 博士(理学) 木下 俊則

委 員 名古屋大学 遺伝子実験施設 教授 博士(農学) 多田 安臣

論文審査の結果の要旨

植物の組織は、様々な微生物との生物間相互作用により多様な形態変化が引き起こされる。その一例として、植物寄生性線虫のシストセンチュウが誘導する合胞体が挙げられる。シストセンチュウは、宿主根の細胞壁を部分的に分解させ、隣り合う細胞同士を細胞融合させることで多核の巨大な細胞である合胞体を作り出す。

シストセンチュウは宿主根の深部に感染するため、感染組織の形態変化を外部から捉えることは困難である。従って、これまでの研究では感染根の薄層切片を作成し、顕微鏡下で観察することで合胞体形成メカニズムの解明を進めていた。しかしながら、この方法ではシストセンチュウによって細胞壁が分解され、次々に細胞が融合するという経時的な情報や、三次元的に広がる合胞体の空間的な情報は得ることができない。そこで申請者は、シストセンチュウの誘導する合胞体形成メカニズムを解析するため、マメ科植物とダイズシストセンチュウ (*Heterodera glycines*) の相互作用に着目し、シストセンチュウの感染行動をリアルタイムに捉えるライブイメージング系と、合胞体全体を鮮明に捉えるホールマウントイメージング系の開発を行った。

シストセンチュウの感染過程をライブイメージングするためには、ダイズシストセンチュウを強く蛍光染色する必要がある。申請者は、FM4-64 および SYBR green I がダイズシストセンチュウの蛍光標識に適することを明らかにした。また、イメージングに適したマメ科の宿主植物の探索を行い、非モデル植物であるレンゲ (*Astragalus sinicus*) を見出した。蛍光標識したダイズシストセンチュウをレンゲに感染させ二光子顕微鏡で観察した結果、根の深部に感染するダイズシストセンチュウは、接種から一日後までに感染部位を決定することが明らかになった。さらに、非モデル植物であるレンゲの一過的な形質転換系を確立し、その結果、ダイズシストセンチュウによって誘導される宿主植物の細胞構造を観察することが可能になった。

植物組織は屈折率の異なる様々な物質が入り交じっているため、ホールマウントイメージングは困難である。申請者は、植物専用の透明化試薬 ClearSee と二光子顕微鏡を用いて合胞体のホールマウントイメージングを行った。そして、合胞体の細胞壁を三次元的に解析し、ダイズシストセンチュウが一定のパターンで宿主細胞壁の分解と再合成を誘導し、細胞壁のリモデリングを行うことが初めて明らかになった。さらに、ホールマウントイメージングによって、根の内部における合胞体の誘導される位置に依存して、合胞体の形態やその細胞壁パターンが異なることが示唆された。

申請者の研究は、宿主—植物間相互作用を二光子顕微鏡による深部イメージングで明らかにする手法を提示したモデルケースとなる研究であり、このイメージング技術を駆使することで、他の生物間相互作用メカニズムの解明に貢献できると期待される。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。