

氏名	杉本 恵
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第2205号
学位授与の日付	平成13年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生産開発科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	植物防御応答に関する情報伝達分子の解析 —エンドウ・褐紋病菌エリシターをモデルとして—
論文審査委員	教授 白石友紀 教授 稲葉昭次 教授 杉尾剛

学位論文内容の要旨

エンドウ褐紋病菌が柄胞子発芽液中に分泌するエリシターは、エンドウ組織に種々の防御応答を誘導する。一方、褐紋病菌はサブレッサーを分泌し、これらの防御応答を抑制することで感染に成功すると考えられている。これまでの解析から、細胞壁が宿主特異性の決定に深く関与していることが示唆された。しかしながら、病原菌シグナルの認識→伝達→応答に至る経路については未詳な部分が少なくない。そこで、本論文では、細胞壁（アポラスト）から細胞内部に至る病原菌シグナルの伝達に関する分子の解析を行った。

まず、原形質膜との相互作用が報告されている細胞骨格に着目し、エリシターシグナルの伝達における役割について薬理学的に調べた。その結果、細胞骨格の一種であるアクチン繊維がエンドウのファイトアレキシン（ピサチン）合成の鍵酵素であるフェニルアラニンアンモニアリーゼ（PAL）のタンパク合成過程に密接に関与していること、また、原形質膜から核へ至る情報伝達にも関わっている可能性が示された。一方、アポラストのエリシターシグナル伝達分子探索の手がかりとして、NTPase代謝産物に着目した。その結果、ADP、リン酸がperoxidaseに依存した活性酸素生成を誘導することが示された。しかし、遺伝子発現を伴うファイトアレキシン生成には作用しなかったことから、これらは細胞壁での防御応答のシグナルであると考えられた。そこで、細胞壁可溶化蛋白質から NTPase 以外の 7 種のエリシター結合蛋白質を精製した。内部アミノ酸配列に基いた cDNA クローニングにより、50kDa の結合蛋白質が polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) であることが明らかになった。PGIP 遺伝子は病原菌シグナルに対して組織と一致した応答性を示したことから、エリシターの受容体の有力な候補と考えられた。

以上の解析と以前の報告 (Kiba et al. 1996, 1998) から、アポラスト→原形質膜→細胞内というエリシターシグナルの流れを考察した。

論文審査結果の要旨

本論文は、植物病害応答に至る情報伝達系に関するタンパク分子についてエンドウと褐紋病菌の生産するエリシター（防御応答誘導因子）をモデルに解析したものである。これまで一般に、植物病原菌のエリシターは原形質膜で認識されると考えられてきた。しかしながら、岡氏の所属する研究室では、細胞壁に第一義的な受容体があることを示すデータが蓄積していた。岡氏は、ビオチン化エリシターフィラメントと相互作用する複数のタンパク分子を検出し、内部アミノ酸配列の解析から、主要なタンパク分子が α -mannosidase (80 kDa, 70 kDa)、auxin-binding protein (25 kDa)、pectin esterase、pectin methylesterase (46kDa, 38 kDa)であること、さらに、50 kDaタンパク質がトマト抵抗性遺伝子Cf9の産物あるいはpolygalacturonase-inhibiting protein (PGIP)のホモログであることを明らかにした。岡氏は、Cf9ホモログに注目し、cDNAからのクローニングを行い、それが他種植物で見い出されたPGIPと高い相同意を示し、抵抗性遺伝子産物で認められるロイシンに富む配列を有することを明らかにした。PGIP抗体はエリシターが認識した細胞壁中の50 kDaのタンパク分子を強く認識することから、本分子がエリシター受容体の一つであると推察している。岡氏は、細胞壁中のPGIP活性がエリシター処理で増加することから、endo polygalacturonaseによるペクチンのモノマー化が阻害され、これによって10-20残基のポリガラクチュロン酸オリゴマーが生産され、これが内生エリシターとなって、細胞内への情報伝達を担っていると考察した。

岡氏はさらに、原形質膜から核に至る情報伝達系に関するタンパク分子を解析した。原形質膜にはインテグリンを介した内部への情報伝達系が存在することを明らかにした (Plant Cell Physiol. 39, 1245-1249)。さらに、インテグリンから内部への情報伝達系を調べ、アクチン繊維が深く関与することを薬理学的に突き止めた。すなわち、アクチン繊維は原形質膜から核に至る情報伝達を担うこと、また、核で転写された防御遺伝子mRNAのリボソームへの配向 (ポリソーム形成) を決定し、遺伝子発現を伴う防御応答への情報伝達分子であることを解明した (Plant Cell Physiol. 41, 234-238)。このように、これまで不明であった細胞表面から防御遺伝子発現に至る情報伝達系の流れを示した岡氏の研究は将来の情報伝達研究に重要な示唆を与える。以上のことから、博士（学術）に値する論文と判定した。