

氏名	河原 智 治		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第2579号		
学位授与の日付	平成15年 3月25日		
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	植物防御応答におけるアピレース、リン酸、パーオキシダーズの役割に関する研究		
論文審査委員	教授 白石 友紀	教授 田原 誠	教授 一瀬 勇規

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

近年、病原菌シグナル認識において、細胞壁画分 NTPase (アピレース) の重要性が明らかとなってきている。本研究では、エンドウ cDNA ライブラリーから 2 種類のアピレース、*PsAPY1*, *PsAPY2* をクローニングした。細胞壁 NTPase と予想される *PsAPY1* について大腸菌システムを用いて組換えタンパク質を発現させ、これに対する病原菌シグナルの作用を調べた。この結果、組換え *PsAPY1* タンパク質は病原菌シグナルを直接認識し、これに应答することが判明した。次に、アピレース (*PsAPY1*) 以降の防御応答の探索のため、アピレース分解産物であるリン酸の防御応答への影響について解析した。エンドウ胚軸へのリン酸処理によって、褐紋病菌感染の阻害が認められることから、リン酸処理によって誘導される防御応答の存在が明らかとなった。一方、ファイトアレキシン生成に対するリン酸の効果は認められなかった。そこで、 O_2^- 生成を調べたところ、リン酸処理による増加が認められた。阻害剤試験の結果から、このリン酸による O_2^- 生成は、新たに発現する NADPH oxidase やパーオキシダーズ (POX) と関連することが示唆された。そこで、すでにクローニングされている POX 遺伝子について発現解析を行なったところ、*POX11*, *14*, *21* 遺伝子の増加が認められた。さらに阻害剤試験の結果から、特に *POX21* 遺伝子発現が、リン酸による O_2^- 生成に深く関与することが推察された。以上の結果から、エンドウにおける抵抗性反応には、アピレースの活性化によるリン酸の放出、リン酸誘導性の POX 発現を含む O_2^- 生成という防御システムの存在が強く示唆された。

論文審査結果の要旨

これまでの研究から、病原糸状菌の生産するエリシターやサブレッサーなどのシグナル分子に対して、植物細胞壁に結合した NTPase (アピレース) が応答することが判ってきた。しかし、アピレースはタンパク複合体を形成していたため、アピレース自身がシグナル分子に直接応答するか否かは不明であった。同氏は、エンドウ cDNA ライブラリーから 2 種類のアピレース、*PsAPY1*、*PsAPY2* をクローニングし、細胞壁 NTPase と予想された *PsAPY1* について大腸菌で発現させた組換えタンパク質を作成し、本タンパク質が病原菌シグナルの認識・応答能力を有することを証明した。さらに、同氏は、アピレースより下流の応答を探索するため、アピレースの 1 代謝産物であるリン酸の防御応答への影響について解析した。リン酸そのものは、モデルとして用いた褐紋病菌に影響を与えなかったが、処理エンドウでは感染が顕著に阻害されたことから、リン酸誘導性の防御応答の存在を明らかにした。本系は、ファイトアレキシン生成とは別系であることも証明している。さらに、リン酸処理で、NADPH オキシデース や パーオキシデース (POX) と関連する活性酸素生成が誘導されることを明らかにした。同氏は、POXmRNA の変動を解析し、*POX11*, *14*, *21* 遺伝子の発現がリン酸で制御され、特に *POX21* がリン酸による O_2^- 生成に深く関与しているものと考察した。以上の結果から、エンドウにおける抵抗性反応には、アピレースの活性化によるリン酸の放出、リン酸誘導性の POX 発現と O_2^- 生成機構が存在することをつきとめた。これらの研究の新規性は高く、成果は 2 つの学術論文に公表され、また国外も含め 7 つの口頭発表を行った。以上から、本論文は博士 (農学) の学位に値すると判定した。