

氏 名	MAI THANH LUAN
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博乙第4509号
学位授与の日付	2019年 9月25日
学位授与の要件	博士の論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	Study on the endogenous suppressor(s) in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナに存在する内生サプレッサーに関する研究)
論文審査委員	教授 加藤謙司 教授 豊田和弘 准教授 能年義輝 教授 一瀬勇規
学位論文内容の概要	
<p>The establishment of plant–pathogen interactions that eventually cause diseases often involves the production by pathogens of suppressor(s), which counters or attenuates host disease resistance. Our previous study showed that <i>Arabidopsis</i> seedlings constitutively retain a certain compound(s), referred to as an endogenous suppressor(s) (ES), which suppress(es) defense responses. In this study, <i>Arabidopsis</i> Col-0 plants were used to confirm the presence of endogenous suppressor(s) (ES). The active fraction partitioned into the water phase after ethyl acetate extraction and was found to be responsible for a molecule(s) smaller than 3,000 Dalton through a rough estimation with a size filter membrane. Actually, foliar application of the ES enabled non-adapted fungal pathogens to cause disease symptoms on <i>Arabidopsis</i> Col-0. Consistently, the ES fraction severely suppressed the oxidative burst as well as the expression of defense related genes, such as <i>FRK1</i>, <i>NHO1</i>, <i>WRKY22</i>, <i>WRKY29</i>, <i>PEN2</i>, and <i>PEN3</i> in plants challenged with non-adapted fungus <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> or the fungal elicitor chitin. Interestingly, the actions of ES on <i>Arabidopsis</i> was quite similar to those of the <i>Mycosphaerella</i> suprescins on pea, because it targeted extracellular ATPase and peroxidase, substantially interfering with oxidative burst upon inoculation with non-adapted pathogen or treatment with elicitor. Further purification attempt by reverse-phase HPLC chromatography successfully isolated a possible candidates for ES, which was regarded as a highly purified ES (ES-3). Since the obtained fraction, named F4, showed positive reaction in Ninhydrin test, the candidate molecule(s) responsible for ES activity is presumed to be a small peptidic substance. Consistently, synthesized peptide containing the amino acids identified by the MS/MS analysis was shown to induce susceptibility in <i>Arabidopsis</i> Col-0. It is thus likely that ES plays a role in the basic compatibility between pathogen and its host. Given that plants have constituent(s) that suppresses or delays defense responses, it is also considered as one of key molecules involved in convergent evolution between pathogen and its host plant.</p>	

論文審査結果の要旨

植物に感染し発病させる病原体は、宿主植物種の非宿主抵抗性を回避したり抑制するように適応した微生物と考えられている。これまでに多くの病原体から、宿主植物の防御応答を抑制（遅延）する物質が探索（発見）され、これらは「サプレッサー（抵抗性抑制因子）」と称されている。Mai Thanh Luan 氏は、シロイヌナズナを材料として、病原体サプレッサーと類似の作用をもつ物質を健全な植物体に見出し、複数の精製段階を経て 1 活性物質の同定に至った。本活性物質で処理したシロイヌナズナでは、本来感染しない不適応型病原体（非病原菌）による感染が成立し発病に至る。この物質は、健全植物に先天的に存在することから、内生サプレッサー（ES; endogenous suppressor）と称している。そこで、ES の作用機構について、活性酸素種の生成や防御関連遺伝子の発現を指標として詳細に調べ、ES で処理したシロイヌナズナ葉では不適応型菌の接種あるいは病原体エリクターで誘導されるシロイヌナズナの応答が著しく抑制されることを明らかにした。これらの性質は、エンドウ褐紋病菌が分泌するサプレッサーで調べられた作用と極めて類似していた。続いて、ES の構造解析を目指して高度精製標品を調製し、これが分子量 3 kDa 以下のニンヒドリン反応陽性の物質であったことから、低分子のペプチド性の物質であると推測した。事実、精製標品の LC/MS/MS 解析を進め、当該物質が c-terminally encoded peptide (CEP) のフラグメント（5 アミノ酸）である可能性を突き止めた。そこで、得られた配列情報と、これを基にデータベースから検索された全長配列をそれぞれ化学合成し、これらのサプレッサー活性について ES 精製標品と比較したところ、いずれもが不適応型菌に対する感染誘導作用およびオキシダティブバースト反応の抑制作用を有することから、CEP ペプチドがシロイヌナズナにおける内生サプレッサーの 1 つと結論付けている。これまで、病原体が分泌するサプレッサーの研究については盛んに行われてきたが、植物側に着目した研究例は世界的も稀有である。これらの知見は、植物と病原体の共進化を考える上で一石を投じるものであり、独創性やオリジナリティーの高い研究と言える。したがって、博士（農学）の授与に値するものと判断される。