

# 論文内容の要旨

申請者氏名 李 美賢

本研究では、タバコの病害抵抗性反応にかかわる NtAAA の機能解析を行い、相互作用するタンパク質の単離と生理機能を調べた。NtAAA は ATPase の一種であり、動物細胞では細胞機能に多面的にかかわっていることが知られているが、植物での知見は少ない。

*NtAAA1*-RNAi 植物では病原性細菌 *Pseudomonas syringae* に対する抵抗性が上昇し、野生型に比べてサリチル酸関連遺伝子の発現が増加していた。このことから *NtAAA1* はサリチル酸情報伝達系を抑えることによって、抵抗性反応を負に制御することが分かった。次に、相互作用するタンパク質を yeast two-hybrid 法で検索した。得られたクローンのひとつは低分子量 GTPase, ARF (ADP ribosylation factor) をコードしていた。これを NtARF (*Nicotiana tabacum* ARF) と名付けた。NtARF と *NtAAA1* の結合は in vitro pull-down assay によって示され、in vivo の結合は FRET (fluorescence resonance transfer) によって確認された。*NtARF* 過剰発現植物は自発的な壊死斑を形成し、傷による細胞死が起こることから、NtARF は病害に対する抵抗性を促進することが分かった。さらに、*NtARF* 過剰発現植物で *NtAAA1* を発現させると *NtARF* による傷誘導細胞死が起こらないこと、抵抗性が減少することが分かった。*NtARF* による抵抗性機能の促進は *NtAAA1* によって抑制されることが示唆された。*P. syringae* の感染後、*NtARF* は3時間で、*NtAAA1* は9時間で発現が誘導されること、また、誘導するシグナルはそれぞれサリチル酸とエチレンであることも明らかになった。

以上の結果から、植物が病害を受けるとサリチル酸によって *NtARF* が誘導され、初期抵抗性反応を進行させること、その後、エチレンによって *NtAAA1* が誘導され、NtARF と結合し、その機能を抑制することが示唆された。抵抗性反応にはアクセルとブレーキがあり、それぞれが適宜、作用することが必要との結論を得た。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 李 美賢

植物が被るストレスのひとつとして、病害は深刻である。そのため、多様な抵抗性反応を進化させてきた。関与する蛋白質は多方面におよび、協調して作用すると思われるが、詳しいメカニズムは分かっていない。本研究では、傷害に特異的に応答して発現する NtAAA について詳細な解析をおこなった。

実験は3部からなり、第1部では *NtAAA1*-RNAi 植物を作成し、機能解析をおこなった。組換え植物は病原性細菌に対する抵抗性が亢進していたことから、NtAAA は予想に反して抵抗性反応を負に制御することが知られた。第2部では NtAAA1 と特異的に相互作用する低分子量 GTPase (ARF) を単離し、特徴づけをおこなった。NtARF と NtAAA1 の *in vivo* 結合は FRET (fluorescence resonance transfer) によって確認。 *NtARF* 過剰発現植物は壊死斑を形成し、傷によっても細胞死が起こること、さらに病害に対する抵抗性が亢進していることを示した。この時、 *NtAAA1* を強制発現させると *NtARF* による傷誘導細胞死が起こらないこと、抵抗性が減少することが分った。さらに、添加実験により、NtARF はサルチル酸に、NtAAA1 はエチレンにより誘導されることもあきらかになった。サルチル酸とエチレンは古くから拮抗的に作用することが知られている。これらの結果から、抵抗性反応には機能が対立する NtARF と NtAAA1 とが関わること、両者は植物ホルモンによって時間的、空間的に独立して誘導されること、したがって両者は相互作用しながら抵抗性機能のバランスをとっていること、が示唆された。

以上のように、本論文は植物のストレス応答には正と負の制御機構が存在することを明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。