

論文内容の要旨

申請者氏名 Mwathi Jane Wamaitha

The rice small GTPase OsRac1 is a molecular switch in rice innate immunity. The Receptor for Activated Kinase C-1 (RACK1) interacts with OsRac1 to suppress the growth of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. RACK1 has two homologs in rice, RACK1A and RACK1B. Overexpressing RACK1A enhances resistance to the rice blast fungus. However, RACK1A downstream signals are largely unknown. Here, we report the identification of OsRap2.6, a transcription factor that interacts with RACK1A. It was found that a 94% similarity between the OsRap2.6 AP2 domain and Arabidopsis Rap2.6 (AtRap2.6). Bimolecular fluorescence complementation (BiFC) assays in rice protoplasts using tagged OsRap2.6 and RACK1A with the C-terminal and N-terminal fragments of Venus (Vc/Vn) indicated that OsRap2.6 and RACK1A interacted and localized in the nucleus and the cytoplasm. Moreover, OsRap2.6 and OsMAPK3/6 interacted in the nucleus and the cytoplasm. Expression of defense genes *PAL1* and *PBZ1* as well as *OsRap2.6* was induced after chitin treatment. Disease resistance analysis using *OsRap2.6* RNAi and over expressing (Ox) plants infected with the rice blast fungus indicated that *OsRap2.6* RNAi plants were highly susceptible, whereas *OsRap2.6* Ox plants had an increased resistance to the compatible blast fungus. It was concluded that OsRap2.6 contributes to rice innate immunity through its interaction with RACK1A in compatible interactions.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Mwathi Jane Wamaitha

イネの低分子 GTPase のひとつである OsRac1 はこれまでの研究より自然免疫の重要な制御因子であることが明らかになっている。OsRac1 は免疫受容体、シャペロン因子、GEF, などの制御因子、また免疫反応に必要な NADPH oxidase や CCR と免疫ネットワークを構成することが明らかになっている。これまでの研究から、OsRac1 は Receptor for Activated Kinase-C 1 (RACK1) と結合し、さらに RACK1 は NADPH oxidase や複数のシャペロンと結合し、耐病性や活性酸素の生成を制御することが明らかになっているが、その機能については未知の部分が多い。そこで、イネ自然免疫における RACK1 の機能を明らかにするため、RACK1 の結合因子を酵母ツーハイブリッド法を用いて検索した。その結果 AP2/ERF ドメインを持つ植物特異的転写因子である OsRap2.6 を同定した。OsRap2.6 はシロイヌナズナの AtRap2.6 とアミノ酸レベルで 94% の相同性を持つことが分かった。

イネプロトプラストを用いた BiFC 実験により、OsRap2.6 と RACK1 との相互作用を確認した。さらに同様の実験で OsRap2.6 とイネの自然免疫において重要なシグナリング因子として知られる OsMAPK3 と OsMAPK6 との相互作用も確認できた。また、イネ培養細胞において、イネのエリシターのひとつであるキチンにより OsRap2.6 の発現が誘導されることも確認した。

さらにイネ自然免疫における OsRap2.6 の機能を調べるため、過剰発現植物と RNAi 植物を作成し、イネの最も重要な病原菌であるいもち菌 *Magnaporthe oryzae* に対する抵抗性を解析した。その結果、親和性のいもち菌の接種試験においては、過剰発現植物において野生型と比較し優位な抵抗性の向上が見られた。また RNAi 植物においては過剰発現とは逆のより感受性が高くなっていた。一方、親和性のいもち菌の接種試験とともに行った非親和性のいもち菌の接種試験においてはいずれの植物においても野生型と有意な差は観察されなかった。

以上の結果から、OsRap2.6 はイネの OsRac1 経路において耐病性を正に制御する因子であり、イネの耐病性育種に有用な遺伝子であることが明らかになった。以上の結果より、本論文はイネの最重要病害であるいもち病に対する耐病性遺伝子を同定したことにより、学術および応用の面で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。