

論文内容の要旨

申請者氏名 赤松 明

植物の病原菌に対する抵抗性機構は、病原菌の細胞表層に共通して存在する MAMPs (Microbe Associated Molecular Patterns) と呼ばれる分子を受容体が認識することで誘導される。植物の細胞膜上には、動物細胞や昆虫細胞においても見られるような受容体型キナーゼが多数存在しており、それらが植物の抵抗性において重要な役割を果たすことが報告されている。現在までに得られている受容体型キナーゼからのシグナル伝達メカニズムに関する知見は、受容体キナーゼの機能や構造を補助する因子に限られており、受容体キナーゼが受け取ったシグナルがどのような因子を介して下流に伝達されるか不明のままである。

FRET プローブ Raichu-OsRac1 は、OsRac1 の活性化状態をイネ細胞内においてリアルタイムで観察することができる。このプローブを用いた解析から、OsRac1 がキチンエリシターによって活性化状態に移行することを明らかにした。また、その応答は非常に素早く、処理後 3 分以内の応答であることが示された。これは、既知の細胞応答と比較しても非常に素早い応答であることから、OsRac1 の活性化が病害抵抗性において初期に起こる応答であることが示唆された。

酵母 Two-Hybrid 法によるスクリーニングで得られた OsRac1 の相互作用因子 OsRacGEF1 は、植物特異的な GEF ドメインである PRONE ドメインを有する。*in vitro* および *in vivo* 解析から OsRacGEF1 の PRONE ドメインが OsRac1 を強く活性化することが示された。また、*OsRacGEF1* の RNAi 植物体では、イネいもち病菌に対する抵抗性が弱まることも示された。これらのことから OsRacGEF1 が OsRac1 を活性化する GEF であることが明らかとなった。

共免疫沈降法および BiFC 解析により、OsRacGEF1 と OsCERK1 が相互作用することが示された。このことから OsRacGEF1 は受容体キナーゼからシグナルを受け取る因子であることが強く示唆された。さらに質量分析から、OsRacGEF1 の C 末端領域がリン酸化されることが明らかとなった。質量分析によって、明らかとなったリン酸化部位は、遺伝学的解析から、イネいもち病菌への抵抗性に対しても重要であることが示された。

本研究により、受容体キナーゼからのシグナル伝達の基本となる経路として、OsRacGEF1 および OsRac1 を介したシグナル経路によって病害抵抗性が活性化されることが明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 赤松 明

植物の自然免疫において、受容体が病原菌由来の MAMP を受容すると抵抗性遺伝子の発現が促進される。多くの研究者によって、MAMP 受容体をもとに相互作用因子の探索が行われ、シャペロンタンパク質や足場タンパク質がその相互作用因子として同定されてきている。しかしながら、どのようなシグナル伝達経路によって抵抗性遺伝子の発現に至るのかは不明な部分が多かった。

申請者の研究では、低分子量 G タンパク質 OsRac1 が MAMP 受容体と協調してシグナル伝達経路において機能していることを明らかにした。そのため、これまで明らかにされてこなかった MAMP 受容体の下流で低分子量 G タンパク質が機能するという大変重要なものとなった。さらに、MAMP 受容体によってリン酸化されることによって直接活性化されることが示された OsRacGEF1 は、OsRac1 を活性化することが *in vivo*、*in vitro* 両方の解析から明らかとなった。この知見は、植物免疫の分野のみならず、植物にも多く存在する受容体型キナーゼの下流で起こっているシグナル伝達経路を明らかにするために、重要な知見となると思われる。また、申請者の研究では、積極的にバイオイメージング技術を利用したことも特徴のひとつであった。植物において低分子量 G タンパク質の活性化状態を時空間的に明らかにした例はこれまで報告されていなかった。申請者は、FRET を利用したバイオセンサーを用いることで、これの最初となる例を論文として報告した。この成果は、植物の防御応答機構の解明に大きな影響を与えるとともに、植物における低分子量 G タンパク質の研究に大きく貢献できると期待される。

以上のように、本論文はイネ病害抵抗性における新規の経路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。