

論文内容の要旨

申請者氏名 平瀬 大志

植物と病原菌の相互作用については植物病害の発生は環境条件によって大きく影響されており、例えば長雨や洪水に伴う高湿度環境では往々にして植物病害が深刻化する。しかしながら、病原菌の感染と植物の水輸送制御との関係性について分子レベルの知見は極めて乏しい。そこで本研究では、動植物で保存され、細胞内外への水輸送を担う細胞膜局在型水チャネル（アクアポリン、PIP）に着目し、PIP が植物免疫に果たす役割やその分子制御メカニズムに関してシロイヌナズナにおいて解明を進めた。

植物のパターン認識受容体（PRR）には、膜貫通型受容体キナーゼである FLS2（細菌の鞭毛成分フラジェリンを認識する）や PEPR（内生の免疫制御 Pep ペプチドを認識する）が含まれ、病原菌の存在を感知して増殖を抑える上で中心的な役割を果たす。まず、PEPR や FLS2 の相互作用タンパク質として複数の PIP 分子種を同定し、シロイヌナズナの PIP13 分子種のうち、ロゼット葉で高発現している 3 分子種が病原細菌 *Pseudomonas syringae* pv *tomato* に対する抵抗性に寄与することを示した。次に、それらの中で、気孔閉鎖応答に基づく侵入抵抗性および細胞間隙において細菌による水浸漬及び増殖を抑制する侵入後抵抗性にはそれぞれ異なる PIP 分子種が必要であることを明らかにした。

さらに、PRR 活性化時のリン酸化プロテオーム解析データから、侵入後抵抗性に寄与する PIP 分子種に特異的なリン酸化部位を見出した。そのリン酸化阻害置換体は、水輸送活性が著しく低下しており、上記の *pip* 欠損変異体植物に導入しても細菌抵抗性を回復できないことを示した。一方、野生型タンパク質やリン酸化擬似置換体は *pip* 変異体植物の表現型を相補したことから、当 PIP 分子種の当該サイトのリン酸化を介した水輸送活性の制御が細菌抵抗性において重要な役割を果たすとの結論を得た。さらに同サイトのリン酸化部位特異的抗体を作出し、そのリン酸化が細菌接種に伴う PRR の活性化によって誘導されることを明らかにした。また、FLS2 や PEPR の共受容体として働く BAK1 が *in vitro* において同サイトのリン酸化活性を有することも示した。さらに、PRR シグナル系による当リン酸化を阻害する細菌のエフェクターも同定し、それらが細菌による水浸漬誘導や増殖に寄与することも示した。

以上の結果から、PRR 複合体による PIP を介した水輸送の活性制御は、病原細菌に対する侵入抵抗性及び侵入後抵抗性に寄与していることを明らかにした。特に、後者に関する発見によって、細菌の水浸漬を介した感染戦略を植物が抑制する防御応答メカニズムを初めて同定した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 平瀬 大志

植物・病原菌が湿度や温度などの環境変動に応じて相互作用戦略を調節する仕組みはよくわかっていない。高湿度環境において病原細菌の感染や病害が促進される基盤として、葉に水を集積させる感染戦略の重要性やそれを可能にするエフェクター（感染促進因子）の実体がようやく近年になって報告されたばかりである。一方、当感染戦略に対抗する植物の抵抗性機構に関しては、重要因子や制御メカニズムはおろか、その存在自体が全く不明であった。

申請者は、シロイヌナズナにおいて、植物細胞膜に存在して病原菌の認識に働く免疫受容体「パターン認識受容体（PRR）」と細胞膜局在型水チャネル（PIP）の複数分子種との間で相互作用を検出したことから、その意義に関して、特に上記の文脈において解明を進めた。遺伝学的解析の結果、特定の PIP 分子種が、病原細菌の気孔を介した葉への侵入や細胞間隙に侵入後の増殖を抑制する上で重要な役割を担うことを示した。したがって、動植物に保存される PIP をシロイヌナズナは 13 分子種持ちながら、特定の分子種をそれぞれ活用して細菌の侵入抵抗性及び侵入後抵抗性を発現していることがわかった。

さらに、侵入後抵抗性に寄与する PIP 分子種に特異的なリン酸化サイトがあり、PRR 活性化時にそれがリン酸化されること、またそのリン酸化が水輸送活性に促進的に働き、病原細菌の水集積ひいては増殖を抑制する上で鍵となっていることを示す証拠も得た。少なくとも *in vitro* で、PRR 複合体の構成因子である BAK1 が同サイトのリン酸化活性を有することも示し、同リン酸化に至る PRR のシグナル経路についても有力なモデルを提唱した。さらに、この PRR シグナル機能を抑制する細菌エフェクターも同定し、細菌にとって宿主植物の PRR を介した PIP リン酸化を抑制することが感染に重要であることも示した。

以上から、PRR 複合体による水チャネルの活性制御を通じて植物が高湿度環境で免疫を保持する仕組みの一端を明らかにした。特に、病原細菌による水集積に基づく感染戦略を植物が抑制する分子実体として特定の PIP 分子種を同定し、また PRR シグナル系による同 PIP 分子種の活性調節機構についても重要な知見を得た点において、本研究の新規性やインパクトは極めて高いと見受けられる。今後、植物と病原細菌との水をめぐる攻防を分子レベルで紐解いていく上で重要なマイルストーンとして位置づけられる。

研究の進歩性や完成度は高く、論文投稿にも近い状態であると判断される。本博士学位論文は優れた内容となっており、学術上・応用上の貢献や波及効果も大きいと評価される。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。