

別紙様式 2

学位論文要旨

所属専攻 理学 専攻
氏名 中上 知

論文題名

植物寄生性線虫感染時における植物の成長—防御調節機構の解明

要 旨

第 1 章

植物内在性ペプチドシグナルの線虫感染過程における関与

植物は様々なストレスに適応するため長距離シグナル伝達機構を発達させている。植物寄生性線虫であるネコブセンチュウ類 (root-knot nematodes; RKN)は広い宿主範囲を持ち、多くの農業作物に感染できるため、世界中で深刻な農業被害を引き起こしている (Jones et al., 2013)。RKN は宿主の根に侵入すると、根組織が異常に肥大化した根こぶと呼ばれる器官を形成する。根こぶ形成には多大なコストが必要と考えられ、さらに RKN は根こぶから栄養を摂取し続けるため、植物の生育は著しく阻害される。RKN は植物細胞に様々なエフェクター因子を注入することで根こぶ形成を誘導する。近年、植物寄生性線虫の一種であるテンサイシストセンチュウが植物ペプチドホルモンをミミックする分子を合成し、局所的なシグナル伝達により摂食組織であるシンシチウム形成を誘導することが明らかとなった (Guo et al., 2017)。しかしながら、RKN が植物の内在性ペプチドホルモンのシグナル伝達機構を感染に利用しているかどうかは不明なままである。

本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、RKN であるサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*)が植物の内在性ペプチドシグナルである CLAVATA3 (CLV3)/EMBRYO SURROUNDING REGION (CLE)-CLV1 モジュールを利用して、感染を成立させていることを明らかにした。根こぶにおけるトランスクリプトーム解析により、複数の *CLE* 遺伝子が根こぶにおいて発現上昇しており、さらに、定量的逆転写 PCR 及びプロモーター活性試験により、*CLE1*、*CLE3*、*CLE4* 及び *CLE7* が根こぶにおいて発現上昇するこ

とが確かめられた。さらに、これらの *CLE* 遺伝子が根こぶ形成に関わるかを調べたところ、*CLE* 遺伝子が欠損した植物は *RKN* に対する抵抗性が増した一方、*CLE3* 過剰発現体は *RKN* に対する感受性が増した。さらに、センチュウ感染に関わる *CLE* ペプチドの受容体を同定するため、様々な *CLE* ペプチド受容体遺伝子の欠損変異体を用いて *RKN* 感染アッセイを行った。その結果、*CLV1* 遺伝子の欠損変異体のみにおいて *RKN* に対する抵抗性が増していた。また、リガンド-受容体結合アッセイにより、*CLE3* ペプチドが *CLV1* に直接結合することが示された。これらの結果は、植物の *CLE-CLV1* モジュールが *RKN* 感染を正に制御することを示している。次に、*CLE3* が局所的あるいは全身的に機能するかを、スプリットルートカルチャーシステムを用いて試験したところ、局所的な *CLE3* 過剰発現が全身的な根こぶ形成の誘導を引き起こすことが示された。さらに、接木植物を用いた試験により、*CLV1* が地上部と地下部のどちらで *CLE3* を認識しているかを検証した結果、地上部で発現する *CLV1* が根こぶ形成に重要であることが明らかとなった。以上の結果から、根由来の *CLE* シグナルが地上部へと移動し、地上部の *CLV1* に認識されることで根こぶ形成を誘導することが示唆された。

本研究では、*RKN* が宿主植物の持つ内在性ペプチドホルモンを利用して自身の感染成立をサポートすることを初めて実証した。今後のさらなる解析により、地上部由来の未知の根こぶ形成誘導因子の同定が期待される。

第2章

線虫感染時におけるサリチル酸を介した成長-防御バランス調節機構の解明

生涯にわたって器官形成を繰り返す植物において、病原体感染時における成長と防御のトレードオフは植物の適応戦略において必須のメカニズムである。地上部組織に病原性カビが感染した場合は、葉においてサリチル酸 (*SA*)などの防御応答に関わる植物ホルモンが産生され、防御応答を活性化する一方、成長や代謝に関わる応答を抑制する。葉における *SA* を介した成長-防御バランス調節機構は *DP-E2F-like 1 (DEL1)/E2Fe* 遺伝子によって調節されることが報告されている。*DEL1* は *SA* 合成を抑制的に制御することで過剰な *SA* 応答を回避し、結果として病原菌感染時における過剰な成長阻害を抑制している。しかし、根において同様の成長-防御バランス調節機構が存在するかどうかはわかっていない。

ネコブセンチュウ類 (*RKN*)は様々な農作物の根に感染し、世界中で甚大な経済的損失を引き起こすため、農業上重要な病原性微生物である。*RKN* 感染に対して *SA* などの防御応答に関わる植物ホルモンが機能することはすでに多数報告されているが、*RKN* 感染後に植物が成長と防御のバランスを調節しているかどうかはわかっていない。

本研究ではモデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)とサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*)を用いたアッセイ系により、シロイヌナズナ *DP-E2F-like 1 (DEL1)/E2Fe* 遺伝子が根こぶ形成過程において成長と防御のトレードオフを制御すること

を見出した。*DEL1* を欠損した *dell-1* 変異体は RKN 感染後に根こぶにおいて SA 合成関連遺伝子の発現量が野生型植物の根こぶでの発現量よりも高く、根こぶでの SA 蓄積量も多くなっていた。このことから、*DEL1* は根において SA 合成を負に制御することが明らかとなった。さらに、*dell-1* 変異体では野生型植物と比較して根こぶ数の減少及び巨大細胞の形成異常が見られた。加えて、*dell-1* の根こぶでは根こぶ形成の早いタイミングでリグニン化が観察された。さらに、リグニン合成関連遺伝子の発現レベルも上昇しており、*DEL1* はリグニン合成を負に制御することが示唆された。以上のことから、*DEL1* は線虫感染において、防御応答を負に制御することが明らかとなった。次に RKN 感染が根の成長に及ぼす影響を調べた。RKN 非感染時の根の生育に、野生型と *dell-1* で違いは見られなかった。一方で、RKN 感染後では野生型及び *dell-1* で根の生育阻害が見られたが、*dell-1* ではより顕著な程度での根の生育阻害が起こった。以上の結果は、*DEL1* が SA 及びリグニンの蓄積を抑制的に制御することで植物の成長と防御のバランスを制御することを示唆している。

本研究により、*DEL1* は葉においてだけでなく、根においても成長-防御バランス調節を担っていることが示された。また、本研究は RKN 感染において植物が成長と防御のトレードオフを制御することを初めて実証した。