

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 植物-病原体-環境ネットワークの解明による気候変動対応型病害抵抗性の分子設計

2. 個人研究者名

峯 彰（立命館大学生命科学部 助教）

3. 事後評価結果

植物病原菌の感染は高温と高湿度の条件下で拡大することが知られているが、分子機構は不明であった。峯研究者は、高温/高湿度条件下で病原細菌 *Pseudomonas syringae* によるシロイヌナズナへの感染が促進されることを見出し、シロイヌナズナと病原細菌両者の感染後の時系列トランスクリプトーム解析によって高温/高湿度条件下でのシロイヌナズナの免疫抑制、あるいは、*P. syringae* の高病原性を引き起こす制御機構の解明を目指した。また、実験の精度を高め、ハイスループットに定量・解析するための技術の開発にも尽力した。病原菌の感染程度を評価するためには、植物体内における細菌数の増減を定量する必要があるが、従来法は労力を要しスループットも低い。そこで、ルシフェラーゼオペロンを導入して恒常的に発光する *P. syringae* を作出し、発光を指標として細菌増殖を迅速かつハイスループットに定量する技術を開発した。一方、細菌の RNA-seq ライブラリーの調製には、大量に混在するリボソーム RNA (rRNA) の選択的除去を必要とするが、市販のキットは高価で作業工程も煩雑なものが多い。そのため、ローコスト・ハイスループット化を実現するライブラリー作製法「BrAD-seq-3R」を開発した。この手法は、効率よく rRNA を除去し、より多くのリードを *P. syringae* の mRNA 配列にマップさせることを可能にした。峯研究者は、これらの自ら開発した独自の実験手法を用いて、まず高温/高湿度条件下における免疫抑制に関わる遺伝子を見つけ出すことを目的に、感染を受けたシロイヌナズナの時系列トランスクリプトーム解析を行った。得られた多数のデータに対して種々のネットワーク解析を適用し、高温/高湿度条件下では、平常条件と比べて、遺伝子発現パターンや、推定される遺伝子間の制御関係が大きく変化し、高温条件と高湿度条件では免疫関連遺伝子の発現変化に与える影響が異なることを見出した。さらに、植物ホルモン応答に関わる遺伝子や特定の転写因子などが免疫抑制に関与している可能性や、エピジェネティック制御が植物免疫の高温耐性化に関わることを示唆する結果を得た。次に、感染植物における *P. syringae* のトランスクリプトームデータを多数取得して、共発現ネットワーク解析を行い、高温と高湿度条件は病原細菌の特定の生理機能に関わる遺伝子群の発現にも影響を与えることを明らかにした。さらに、これらの遺伝子群の発現制御に関わる遺伝子を推定し、その中から *P. syringae* の病原性に関与する遺伝子を発見した。

これらの成果は、独自に開発した実験技術および自ら工夫を加えた共発現ネットワーク解析手法など、周到な準備と綿密な実験によるものであり、独自性の高い研究と高く評価する。地球温暖化に関わる高温や高湿度環境下での植物-病原体の相互作用の理解と環境変化への適応応答を損なうことなく免疫抑制を回避する制御技術の開発は、農学的な応用の視点からもきわめて重要な課題であり、今後の研究の発展を期待する。