

平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書

◆ 記入に当たっては、「平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書記入要領」を参照してください。

ローマ字		DOKE NORIYUKI			
① 研究代表者名		道家 紀志		② 所属研究機関・部局・職 名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授	
③ 研究課題名	和文	植物のオキシダティブバーストと生体防御ネットワークの分子生理学的解明と応用			
	英文	Molecular and physiological studies on oxidative burst and bio-defense networks in plants and its application for disease tolerance			
④ 研究経費 金額単位：千円	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	総合計
	42,000	19,100	8,000	9,000	78,100
⑤ 研究組織（研究代表者及び研究分担者） *平成18年3月31日現在					
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）		
道家 紀志	名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授	植物病理学	局部および全身的オキシダティブバーストの誘導とシグナル伝達の分子生理機構および植物免疫誘導機構の解明と耐病性化への応用ならびに研究総括		
川北 一人	名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教授	植物感染生化学	防御応答におけるNOの生成機構と機能に関する生化学・分子生物学的解明		
吉岡 博文	名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教授	分子植物病理学	オキシダティブバースト系のNADPH酸化酵素系の分子基盤とその発現調節機構の解明ならびに耐病性植物の作出		
⑥ 当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）					
<p>病原菌に対する植物の動的な防御応答の始動と統御において重要な意味をもち、緊急シグナル反応として提唱してきた「オキシダティブバースト（OXB）」を中心に、その分子基盤と発現制御機構ならびに防御応答における役割を理解し、植物の動的な生体防御の統御機構の本筋を解明するとともに、OXB系の発現制御に関わる情報伝達系を操作し耐病性作物を作出することを目的とした。本課題には、世界の四大作物の一つであるジャガイモの難防除病害であるジャガイモ疫病の克服により甚大な収量損失を回復し食糧問題に応えるとともに、環境保全と持続的農業生産を確保する次世代の植物病害防除技術を確立するための理論的基盤を固め、作物の耐病性を強化する実用的課題を含んでいる。具体的には次のことを解明し、実現する。</p>					
<p>1) 植物における動的防御応答の流れにおいて、異物認識と情報伝達機構、その制御下で誘導されるOXB反応系（O₂生成酸化酵素系）およびNO生成酵素系（亜硝酸酸化酵素）の分子基盤と発現制御機構およびそれらの酵素活性を制御する情報伝達系を解明する。</p>					
<p>2) 感染や異物応答で生じる局所的および全身的OXBで生産される活性酸素種の防御関連遺伝子の発現（転写）、酵素の生産（翻訳）および酵素の活性制御（機能化）に関わる役割を分析し、細胞内、細胞間、組織間および器官間における生理機能を時間と組織空間関数を組み込んで解析し、局所的過敏防御応答から個体レベルにおける全身的獲得抵抗性誘導（植物免疫）までの応答の流れを解明し、植物の動的な生体防御の全体像におけるOXBの機能を明らかにする。</p>					
<p>3) OXBの発生と関連し、転写や翻訳レベルで機能し新規に作り出される防御応答の制御因子、抗菌因子、耐病性組織の構築の実態などを、細胞および組織レベルで明らかにするとともに、OXBの発生がない親和性レースの感染時に誘導される遺伝子の動向を捉え、その感染特有に動く遺伝子のプロモーターの活用を図る。</p>					
<p>4) OXBが防御応答ネットワークを形成する重要な反応であることを活用し、親和性菌の感染により発現する遺伝子のプロモーターをOXBの発現を制御する情報伝達系に連結し、防御応答が発現するよう形質転換し、耐病性強化を図る。また、OXB発生の全身獲得抵抗性の誘導刺激作用を解明し、その機構を利用して耐病性強化を考える。</p>					

⑦ 研究成果の概要 (研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、簡潔に記入してください。)

1) 局部的OXBの局部的防御応答の誘導における必須的役割の証明

研究対象のジャガイモ組織では、疫病菌感染防御応答の過程で、即応答型の第1相のOXBと遅延発生型の第2相のOXBが発生し、それぞれNADPH酸化酵素のStrbohAおよびStrbohBに依存することを先に明らかにした。本研究では(1)4倍体のジャガイモの弱点を補うモデル植物として、疫病菌に感染しレース特異的応答を示す2倍体の*Nicotiana benthamiana* (ベンサミアナタバコ)を見つけ、StrbohAとStrbohBのホモログとして*NbrbohA*および*NbrbohB*を単離した。(2) *NbrbohA*と*NbrbohB*に固有のN末端領域と両者共通のC末端領域をPVXベクターに挿入しジーンサイレンシング(VIGS)を可能にし、(3)いずれかのrbohをVIGSにかけた組織では非親和性レースの感染に対する防御応答の発現が停止し罹病化することを示した。ジャガイモでもrbohに依存したOXBが防御応答の発現誘導に必須の機能を果たしていること明らかにした(図1参照)。

2) 局部的OXB系の発生を制御する上流のMAPKカスケードの解明

(1) *StrbohA* (*NbrbohA*)は傷や発育過程で常時発現し、*StrbohB* (*NbrbohB*)は感染で誘導・発現し、前者はCa²⁺インフラクスおよびCDPKに依存し活性化、後者は感染誘導性のMAPKカスケードの制御下で発現し非活性のStrbohB (*NbrbohB*)が生成され、これは第1相のOXBの発生と連動して活性化されるリン酸化酵素(CDPK, 36Kd)によりリン酸化されて活性化することを明らかにした。(2) *StrbohB*および*NbrbohB*の誘導制御に関わるMAPKK (StMEK1、NbMEK1)を同定し、アミノ酸置換して常時発現型にしたNbMEK1^{DD}をAgroinfiltration法で一過的に発現させると、MAPKのSIPK(NbMAP1)およびWIPKの活性化、*NtrbohB*の発現・誘導およびOXBの発生を伴うHR型の防御応答の誘導が起ることを確認し、*rbohB*の発現・誘導機構を明らかにした。(3) MAPK (NbMAP1)が無細胞系でリン酸化する八つのタンパク質(PPS)を同定し、それぞれをVIGSにかけて機能検定した結果、PPS3が*StrbohB*およびファイトアレキシン代謝系酵素遺伝子(*HMG*や*VPS*)の発現を制御する因子であることを明らかにした。(図1参照)

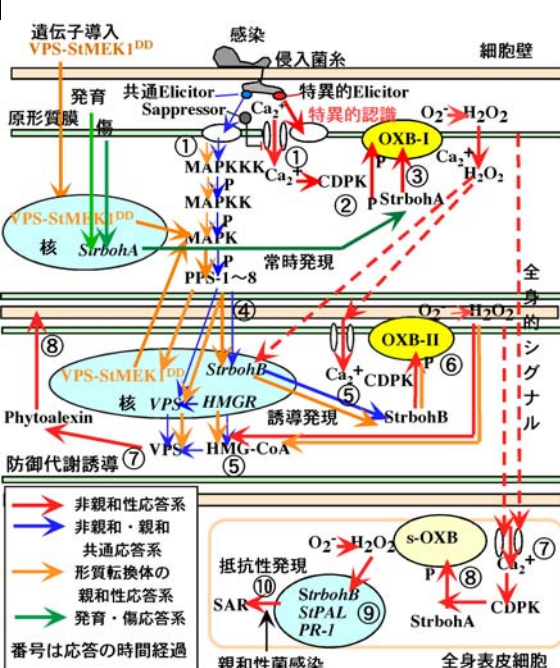


図1. 非親和性レース感染に対する植物のオキシダティブバースト発生に関する初期情報ネットワークとその下流の防御応答系概念図および組換え耐病性個体における親和性レース感染に対する情報の流れ (番号順に進むものと推定される)

連遺伝子の誘導発現がNO消去剤処理で完全抑制を受けることを確認し、防御応答におけるNOの重要性を明らかにした。(3) VIGS法により*NR*をサイレンシングしたベンサミアナタバコ葉において*INF1*誘導性のNO生成が30%抑制を示し*NR*がNO生成に貢献することを示したが、他にもNO生成系が存在することを示唆した。

5) 局部的OXBの全身的OXB誘導への情報伝達機構および全身獲得抵抗性誘導機構の解明

植物組織の一部にOXBを誘導すると、内部組織を経由して離れた組織の表面にOXB(全身的OXB:sOXB)が発生し、これが全身的獲得抵抗性(SAR)誘導の引き金の一つになることを過去に明らかにしている。本研究では、(1) sOXBはStrbohAの活性化に依存し、その発生がStrbohBやPALの全身的発現を誘導し二次感染に対する即防御応答体制を築くことを示した。(2) RNAiで*NbrbohA*と*NbrbohB*をサイレンシングしたベンサミアナタバコ葉では*INF1*でSAR誘導をかけた場合、その誘導が著しく低下することを明らかにし、OXBの全身シグナル発信機能を確認した。(3) 局部的OXBの発生に伴い内生的全身シグナル因子が生産され、それが内部組織細胞でのCa²⁺インフラクスの連鎖反応を刺激し、それが連鎖的に全身的に伝達される新規な細胞間情報伝達機構の存在を示した。

6) 親和性レース感染で発現するPVSプロモーターを活用しOXBの発現誘導した耐病性ジャガイモの作出

(1) PVSプロモーターを、STMEK1^{DD}に連結したキメラ遺伝子を構築し、*A. tumefaciens*の感染を介して形質転換ジャガイモを作出した。(2) 形質転換ジャガイモは発育正常で、親和性疫病菌レースの感染および夏疫病菌の感染に対して強い抵抗性を示し、耐病性化に成功を納めた。(3) 形質転換ジャガイモは非感染な健全状態では導入遺伝子は発現せず、感染とともに非親和性レースの感染同様のHR型防御応答を伴う抵抗性を示した。(4) 親和性レースの感染戦術を宿主のOXB系の誘導に導く方向で情報伝達系遺伝子を操作する理論で、世界で初めて病気にかからない耐病性植物を作れることを実証し、他の作物への摘要を含め将来に明るい展望を開いた。

(1) *StrbohA* (*NbrbohA*)は傷や発育過程で常時発現し、*StrbohB* (*NbrbohB*)は感染で誘導・発現し、前者はCa²⁺インフラクスおよびCDPKに依存し活性化、後者は感染誘導性のMAPKカスケードの制御下で発現し非活性のStrbohB (*NbrbohB*)が生成され、これは第1相のOXBの発生と連動して活性化されるリン酸化酵素(CDPK, 36Kd)によりリン酸化されて活性化することを明らかにした。(2) *StrbohB*および*NbrbohB*の誘導制御に関わるMAPKK (StMEK1、NbMEK1)を同定し、アミノ酸置換して常時発現型にしたNbMEK1^{DD}をAgroinfiltration法で一過的に発現させると、MAPKのSIPK(NbMAP1)およびWIPKの活性化、*NtrbohB*の発現・誘導およびOXBの発生を伴うHR型の防御応答の誘導が起ることを確認し、*rbohB*の発現・誘導機構を明らかにした。(3) MAPK (NbMAP1)が無細胞系でリン酸化する八つのタンパク質(PPS)を同定し、それぞれをVIGSにかけて機能検定した結果、PPS3が*StrbohB*およびファイトアレキシン代謝系酵素遺伝子(*HMG*や*VPS*)の発現を制御する因子であることを明らかにした。(図1参照)

3) 感染により発現する遺伝子および代謝系の解明

(1) 非親和性レースのみならず親和性レースの感染でもStMEK1およびStMAP1が活性化し、StrbohBやファイトアレキシン合成に関わる代謝系酵素(*HMG*や*PVS*)が誘導・発現するが、非親和性レース感染の場合、第1相のOXBと関連し活性化されるCDPKがStrbohBをリン酸化し活性化、後者の酵素も翻訳後の制御を受けて活性化することを見出した。(2) *VPS*のプロモーターと*GUS*遺伝子を連結したキメラ遺伝子を*Agrobacterium*を介して作出した形質転換ジャガイモにおいて、親和性レースの感染で*PVS-GUS*が発現することを確認し、このプロモーターの防御応答誘導へ活用する道を拓いた。

4) 局部的OXBの発生と協働するNO生成系とその機能の解明

(1) タバコ培養細胞で、疫病菌のタンパク質性エリシター(*INF1*)によりOXBの発生に加え亜硝酸還元酵素遺伝子(*NR*)の発現によるNO生成が誘導されることを見出し、(2) *INF1*処理により、42Kdタンパク質リン酸化酵素の活性化、HR反応、防御関連

⑧特記事項 (この研究において得られた独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、当該研究分野及び関連研究分野への影響等、特記すべき事項があれば記入してください。)

1) 植物の防御応答の発現におけるOXBの決定的重要性を証明した。

非親和性レースの感染に対する植物の動的防御応答の研究で、防御関連遺伝子の発現に関して多くの研究があるが、その発現を統御する情報の伝達と制御機構の解明は遅れていた。研究代表者らは、防御応答を統御する反応としてOXBを発見して以来、その機構と機能の解明にこだわって世界をリードしてきた。本研究では、すでに明らかにしてきた感染防御応答の上流で2相にわたるOXBの発生がそれぞれ2種の O_2 生成NADPH酸化酵素 (rboh) に依存し、両OXBが協調し過敏反応 (HR) 型防御応答を発現・誘導するのに決定的な役割を果たしていることをVIGS法により証明するとともに、親和性レースの感染ではいずれのOXBも発生が抑制され、その結果防御応答の誘導・発現が起こらないことを証明し、OXBが防御応答を統御する鍵反応であることを明らかにした。これは、逆に病気を起こす親和性レースの感染でも、OXBを誘導するように制御すれば耐病性が強化できる知恵を与えた。

2) 親和性レースの感染でも多くの防御関連遺伝子の発現があり、転写後制御が防御応答で重要であることを示した。

非親和性菌の感染に対する植物の動的感染防御において重要な機能を果たすと理解されてきた抗菌性物質のファイトアレキシン生成は、遺伝子発現を伴って誘導される一連の酵素群により生成される。しかし、ナス科植物のセスキテルペノイドファイトアレキシン生合成に関わる酵素 (HMG, VPSなど) の遺伝子の発現が、常識を破って防御応答が起こらない親和性レースの感染によっても起こり、さらに、第2相のOXBが無い親和性レースの感染でも*rbohB*が発現していることを見出した。これらの発見は、防御関連遺伝子の発現は親和性菌・非親和性菌共通に起こり、感染防御応答の特異的発現が転写後ならびに翻訳レベルで起こるという常識から外れた重要な発見をした。

3) 第2相のOXBの発生を担う*rbohB*の発現やファイトアレキシン代謝系酵素の遺伝子はMAKカスケードにより制御されていることを証明した。

病原菌の感染時に活性化されるMAPキナーゼ (StMAP1) を同定したことから、MAPキナーゼカスケードが親和・非親和の関係なく*rbohB*遺伝子および*HMG*や*VPS*遺伝子の誘導発現を制御していることを発見し、MAPKK (MEK1) の常時活性化型にした*MEK1^{DD}*をAgroinfiltration法で一過的に発現させると、MAPキナーゼカスケードの活性化、*rbohB*や*HMG*および*VPS*の発現、第2相のOXBが発生、HRを伴う防御応答の発現が順次起こることを明らかにした。これらの発見が親和性レースの感染で、StMEK1を強制的・持続的に活性化すればHR型の防御応答を誘導し耐病性化を図ることが出来るというアイデアの源となった。

4) 理論と実証にもとづく遺伝子操作による耐病性ジャガイモの作出に世界で初めて成功した。

上述の新規な発見から、親和性レースの感染で発現が誘導される遺伝子として、セスキテルペノイドファイトアレキシン生合成酵素の一つである、バスピラジエンシクラゼ (VPS) に焦点を当て解析した結果、4種のオルソログの内、特に葉で強く発現する*PVS3*をクローニングし、このプロモーターを常時活性化型に修飾した*StMEK1^{DD}*に連結したキメラ遺伝子を構築した。この遺伝子を栽培ジャガイモに導入し形質転換ジャガイモ品種を作出した。その結果、形質転換ジャガイモは理論通り、親和性レースの感染でも非親和性レースの感染応答と類似したOXBとHR型防御応答を発現し、耐病性を示した (図2参照)。これは同一植物内の感染時に発現する遺伝子のプロモーターを利用し、植物自らのもつ緊急シグナル (OXB) 系が活性化するように誘導し、動的防御応答を発現させて耐病性化する新規な理論であり、これを実証して確認した世界で初めての成功例である。今日、OXBの発生が動的防御応答の鍵とする植物の普遍的な性質であると認識されてきており、病原菌の寄生戦術を逆手に利用したこの理論は他の作物においても十分適応できるもので、その応用の展開が期待されている。

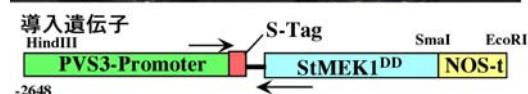


図2. 病原性疫病菌の感染時に動く遺伝子のプロモーターをOXB誘導を制御するMAPKKに演血した遺伝子を導入して作出した世界発の耐病性ジャガイモ

5) HR型防御応答におけるNOの重要な機能の発見と新研究分野を展開した。

植物細胞における防御応答系で第1相のOXBの誘導とともにNOの発生とその生成系 (亜硝酸還元酵素:NRと未知酵素) の重要性を先駆的に明らかにし、OXBとの関係でNOの役割という新研究分野の展開を図った。

6) 全身的OXBの誘導現象の機構解明と全身的免疫誘導技術への応用への展望を拓いた。

局所的なOXBの発生が刺激となり全身的OXBが発生し、これが全身獲得抵抗性誘導の始動的機能をもつことを発見した。本研究でこの現象を確実に証明し、全身的シグナル伝達はOXBの発生現場で生じた誘導因子により、OXB系が不活性化状態の内部組織細胞の連鎖的 Ca^{2+} インフラックスを発生させ、これがOXB系 (StrbohA) の活性化状態の末端表面細胞に到達し、そこでOXB (全身的OXB) が発生する機構を明らかにした。また、OXB系をジーンサシレンシングした植物では、これらの機能が抑制されることを証明し、局所的OXBの発生現場で全身的OXBの誘導刺激因子が生成されることを示唆した。これらの発見は、植物に全身的免疫を誘導する自らの因子と情報伝達ルートが存在することを示し、この因子の解明が将来の新しい安全農薬としての免疫誘導剤の開発に繋がる展望を拓いた。

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

原著論文

- Yamamoto-Katou, A., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Nitrate reductase is responsible for elicitor-induced nitric oxide production in *Nicotiana benthamiana*. **Plant Cell Physiol.** doi:10.1093/pcp/pcj044 (2006)
- Saito, S., Yamamoto-Katou, A., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Peroxynitrite generation and tyrosine nitration in defense responses in tobacco BY-2 cells. **Plant Cell Physiol.** doi:10.1093/pcp/pcj038 (2006)
- Kobayashi, M., Kawakita, K., Maeshima, M., Doke, N. and Yoshioka, H. Subcellular localization of Strboh proteins and NADPH-dependent O₂⁻-generating activity in potato tuber tissues. **J. Exp. Bot.** 57(6), 1373-1379 (2006)
- Yamamizo, C., Kuchimura, K., Kobayashi, A., Katou, S., Kawakita, K., Jones, J.D.G., Doke, N. and Yoshioka, H. Rewiring mitogen-activated protein kinase cascade by positive feedback confers potato blight resistance. **Plant Physiol.** 140(2), 681-692. (2006)
- Katou, S., Yoshioka, H., Kawakita, K., Rowland, O., Jones, J.D.G., Mori, H. and Doke, N. Involvement of PPS3 phosphorylated by elicitor-responsive mitogen-activated protein kinases in the regulation of plant cell death. **Plant Physiol.** 139(4), 1914-1926. (2005)
- Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Involvement of nitric oxide generation in hypersensitive cell death induced by elicitor in tobacco cell suspension culture. **J. Gen. Plant Pathol.** 70(2), 85-92. (2004)
- Katou, S., Yamamoto, A., Yoshioka, H., Kawakita, K. and Doke, N. Functional analysis of potato mitogen-activated protein kinase kinase, StMEK1. **J. Gen. Plant Pathol.** 69(3), 161-168. (2003)
- Nakane, E., Kawakita, K., Doke, N. and Yoshioka, H. Elicitation of primary and secondary metabolism during defense in the potato. **J. Gen. Plant Pathol.** 69(6), 378-384. (2003)
- Takemoto, D., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Disease stress-inducible genes of tobacco: expression profile of elicitor-responsive genes isolated by subtractive hybridization. **Physiol. Plant.** 118(4), 545-553. (2003)
- Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Nitrate reductase, a nitric oxide-producing enzyme: induction by pathogen signals. **J. Gen. Plant Pathol.** 69(4), 218-229. (2003)
- Yoshioka, H., Numata, N., Nakajima, K., Katou, S., Kawakita, K., Rowland, O., Jones, J.D.G. and Doke, N. *Nicotiana benthamiana* gp91^{phox} homologs *NbrbohA* and *NbrbohB* participate in H₂O₂ accumulation and resistance to *Phytophthora infestans*. **Plant Cell** 15(3), 706-718. (2003)

著書および総説

- Doke, N. A strategy to enhance disease resistance of potato using the mechanism of the hypersensitive reaction against potato late blight. **J. Gen. Plant Pathol.** 71, 444-447. (2005)
- 吉岡博文・山溝千尋・小林光智衣・水野貴仁・川北一人・道家紀志 抵抗性遺伝子を介した防御応答におけるシグナル伝達機構. **植物・病原体相互反応における特異性決定機構.** 山本弘幸・秋光和也編, 日本植物病理学会, 東京, 41, 13-22. (2005)
- 吉岡博文・山溝千尋 植物における活性酸素の役割とその誘導. 活性酸素, - 生産と防御のメカニズム -, 中村三千男編, **蛋白質 核酸 酵素**, 50(4), 310-315. (2005)
- 道家紀志 植物におけるオキシダティブバーストとシグナル伝達. **化学と生物** 43, 501-508.
- 吉岡博文・川北一人・道家紀志 植物の生体防御機構. **新版 分子レベルからみた植物の耐病性. -ポストゲノム時代の植物免疫研究-**. 島本 功・渡辺雄一郎・柘植尚志監修, 秀潤社, 東京, pp. 103-110. (2004)
- 道家紀志・吉岡博文・川北一人 感染植物のオキシダティブバースト: その機構・機能と耐病性化への応用. **植物病の探求.** 高松 進・小林一成・吉岡博文・豊田和弘編, 植物病の探求出版会, 三重, pp. 28-34. (2004)
- Doke, N., Yoshioka, H., Sugie, K., Numata, N., Nakajima, K., Park, H.-J., Sunazaki, K., Yamashita, M., Kawakita K. and Katou, S. The superoxide generating NADPH oxidase in plants: its molecular basis and role in induction of local and systemic induced resistance against pathogens. **In Genomic and Genetic Analysis of Plant Parasitism and Defense.** (Tsuyumu, S., Leach J.E., Shiraiishi, T. and Wolpert, T. eds), APS Press. pp. 195-206. (2004)
- 吉岡博文・口村和男・山溝千尋・池田直希・加藤新平・川北一人・小林 晃・道家紀志 宿主植物の抵抗性制御と糸状菌病に対する耐病性強化の展望. **作物の耐病性強化戦略と植物-病原体相互作用の分子機構研究.** 道家紀志・川北一人・吉岡博文編, 日本植物病理学会, 東京, 39, 101-110. (2003)
- 吉岡博文 植物免疫としてのオキシダティブバーストを探る, - MAPK カスケードが活性酸素の生成と細胞死を制御する -. **化学と生物**, 41(10), 639-641. (2003)
- Doke, N., Yoshioka, H., Kawakita, K., Sugie, K., Sunazaki, K. and Park, H.-J. Mechanism of local and systemic oxidative bursts induced by infection or elicitor in potato. **In Biology of Plant-Microbe Interactions Vol. 3.** (Leong, S.A., Allen, C. and Triplett, E.W. eds), IS-MPMI Press, pp. 113-117. (2002)
- 道家紀志 植物の菌類病の現状と将来展望-感染生理学を中心として-. 尾谷 浩・児玉基一郎編, **植物感染生理談話会論文集** 38. 77-88. (2002)

⑨研究成果の発表状況（続き）（この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（掲載が確定しているものを含む。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。）

国際会議

- Kobayashi, M., Yoshioka, H., Kawakita, K. and Doke, N. Intracellular localization of StrbohA and StrbohB proteins in potato tuber tissues. 12th International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions, Merida, Mexico (2005)
- Yamamizo, C., Kuchimura, K., Kobayashi, A., Katou, S., Kawakita, K., Jones, J.D.G., Doke, N. and Yoshioka, H. Production of disease resistant potato plants rewiring plant defence circuits for positive feedback. 12th International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions, Merida, Mexico (2005)
- Yoshioka, H., Yamamizo, C., Katou, S., Kawakita, K., Kobayashi, A. and Doke, N. MAPK cascade modulates plant innate immunity through enhanced gene expression of rboh gene. 2nd Asian Conference on Plant Pathology, Singapore (2005)
- Kawakita, K., A. Yamamoto, S. Saito, S. Katou, H. Yoshioka and N. Doke Involvement of NO in plant defense responses and role of nitrate reductase in NO production. 2nd Asian Conference on Plant Pathology, Singapore. (2005)
- Kawakita, K. The role of nitric oxide in plant defense responses. Korea/China/Japan International Symposium: Environment favorable agriculture & subtropical Bio-industry, Jeju, Korea. (2005)
- Yoshioka, H. and Doke, N. Molecular mechanisms of oxidative burst, a possible role in plant immunity. NIAR-COE/BRAIN/CREST Joint International Symposium "Plant Immunity" Signaling to acquired resistance. Tsukuba, Japan (2004)
- Yoshioka, H. and Doke, N. Molecular mechanisms of oxidative burst in plant immunity. 15th International Plant Protection Congress, Beijing, China (2004)
- Kawakita, K., Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H. and Doke, N. Involvement of NO in plant defense responses and role of nitrate reductase in NO production. The 3rd International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, Nara, Japan. (2004)
- Kawakita, K., Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H. and Doke, N. Involvement of NO in plant defense responses and its producing system. The 3rd Indonesian Biotechnology Conference 2004, Bali, Indonesia. (2004)
- Doke, N., Yamashita, M., Sunazaki, K., Yoshioka, H., Kawakita, K., Park, H.-J. Elicitor-stimulated local oxidative burst (OXB) activates a long-distant signaling system involving a cell-to-cell Ca^{2+} influx depending on H^{+} -ATPase that triggers systemic OXB and systemic acquired resistance (SAR). Plant Biology 2003, Honolulu, United States (2003)
- Doke, N. Yoshioka, H., Sugie, K., Numata, N., Nakajima, K., Park, H.-J., Sunazaki, K., Yamashita, M., Kawakita, K. and Katou, S. The superoxide generating NADPH oxidase in plants: its molecular basis and role in induction of local and systemic induced resistance against pathogens. US-Japan Seminar on Genomics and Genetic Analysis of Plant Parasitism and Defense. Shizuoka, Japan (2003)
- Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Nitrate reductase, a nitric oxide producing enzyme, is induced by pathogen signals in potato plants. 11th Congress International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions, St.-Petersburg, Russian Federation (2003)
- Yamashita, M., Sunazaki, K., Yoshioka, H., Kawakita, K. and Doke, N. Mechanism of dispatching and transduction of early systemic signal for induction of systemic acquired resistance in plants. 8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand (2003)
- Yoshioka, H., Numata, N., Ikeda, N., Yamamizo, C., Katou, S., Kawakita, K., Rowland, O., Jones, J.D.G. and Doke, N. MAPK cascade regulates gene for plant gp91 *phox* homologs in *Nicotiana benthamiana*. 6th conference of Plant Stress, Reactive Oxygen and Antioxidants, Freising-Weihestephan, Germany (2003)
- Yoshioka, H., Numata, N., Ikeda, N., Nakajima, K., Katou, S., Kawakita, K., Rowland, O., Jones, J.D.G. and Doke, N. *Nicotiana benthamiana* gp91 *phox* homologs *NbrbohA* and *NbrbohB* participate in H_2O_2 accumulation and resistance to *Phytophthora infestans*. Plant Biology 2003, Honolulu, United States (2003)
- Yoshioka, H., Numata, N., Nakajima, K., Katou, S., Kawakita, K., Rowland, O., Jones, J.D.G. and Doke, N. Plant gp91*phox* participate in H_2O_2 accumulation and resistance of *N. benthamiana* to *P. infestans*. 8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand (2003)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

学会発表

- 道家紀志. 植物における感染防御応答の分子機構と耐病性強化に関する研究. 日本農学賞受賞論文要旨 9-11.(2005)
- Deguchi, T., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Characterization and function of protein phosphatase inactivating MAP kinase in disease response. *Plant Cell Physiol.* 46 : s36. (講要) (2005)
- 石濱伸明・吉岡博文・川北一人・道家紀志 全身的活性酸素生成に応答するC₂H₂ type Zn Finger Protein遺伝子プロモータの機能解析. 平成17年度日本植物病理学会関西西部会 No 124 (講要) (2005)
- Kawakita, K The role of nitric oxide in plant defense responses. Korea/China/Japan International Symposium: Environment favorable agriculture & subtropical Bio-industry, Jeju, Korea, p. 3. (講要) (2005)
- Kawakita, K., Yamamoto, A., Saito, S., Katou, S., Yoshioka, H. and Doke, N. Involvement of NO in plant defense responses and role of nitrate reductase in NO production. 2nd Asian Conference on Plant Pathology, Singapore, p. 25. (講要) (2005)
- 小林光智衣・大浦生子・吉岡博文・川北一人・道家紀志 StrbohBのリン酸化酵素のスクリーニング. 平成17年度日本植物病理学会関西西部会 No 123 (講要) (2005)
- 小林光智衣・大浦生子・吉岡博文・川北一人・道家紀志 ジャガイモ塊茎組織におけるStrbohBのリン酸化について. 日植病報 71 : 187. (講要) (2005)
- Kobayashi, M., Yoshioka, H., Kawakita, K., Maeshima, M. and Doke, N. Intercellular localization of Strboh proteins in potato tuber tissues. *Plant Cell Physiol.* 46 : s120. (講要) (2005)
- 水野貴仁・大田幸士・川北一人・道家紀志・児玉基一朗・吉岡博文 ジーンサイレンシングによるAAL毒素のシグナル伝達機構に関する研究. 日植病報 71 : 187. (講要) (2005)
- Morita-Yamamuro, C., Tsutsui, T., Asada, Y., Yoshioka, H., Tamaoki, M., Ogawa, D. Matsuura, H., Yoshihara, T., Ikeda, A., Uyeda, I. and Yamaguchi, J. The *Arabidopsis* gene *CAD1* controls programmed cell death in the plant immune system and encodes a protein containing a MACPF domain. *Plant Cell Physiol.* 46 : s120. (講要) (2005)
- 岡美有紀・加藤新平・川北一人・道家紀志・吉岡博文 StMPK1 の基質である PPS3 により制御される遺伝子の探索. 平成17年度日本植物病理学会関西西部会 No 121 (講要) (2005)
- 齋藤修平・加藤(山本)文子・吉岡博文・川北一人・道家紀志 INF1 エリシター処理したタバコBY-2細胞におけるペルオキシ亜硝酸の生成. 平成17年度日本植物病理学会関西西部会 No 125 (講要) (2005)
- Yamamizo, C., Kuchimura, K., Katou, S., Kawakita, K., Doke, N., Kobayashi, A. and Yoshioka, H. Production and analysis of disease resistance potato plants using the signal transduction mechanism. *Plant Cell Physiol.* 46 : s94. (講要) (2005)
- 山溝千尋・吉岡美樹・平野美奈子・川北一人・道家紀志・吉岡博文 MAPKカスケードのジャガイモ疫病菌抵抗性における役割. 平成17年度日本植物病理学会関西西部会 No 122 (講要) (2005)
- 山溝千尋・吉岡美樹・川北一人・道家紀志・吉岡博文 ジャガイモMAPK (StMPK1) を利用した耐病性植物の作出. 日植病報 71 : 187. (講要) (2005)
- Yoshioka, H., Ohura, I., Kawakita, K. and Doke, N. Role of calcium ison in plant innate immunity. *Plant Cell Physiol.* 46 : s23. (講要) (2005)
- 出口友美・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 ジャガイモ植物のMAPキナーゼを不活性化するタンパク質脱リン酸化酵素の性質. 平成16年度日本植物病理学会関西西部会 : No. 106. (講要) (2004)
- 道家紀志 エリシターの受容とオキシダティブバーストの分子機構とその機能. 「植物-病原微生物」公開シンポジウム「植物-病原微生物の分子応答機構の解明 - 耐病性植物の創出に向けて-」特定研究「植物-病原微生物」Research News Letter 15: 106-114. (2004)
- 道家紀志・吉岡博文・川北一人・山溝千尋・加藤新平・砂崎浩二・山下真生 植物の感染防御応答におけるオキシダティブバーストの機構と機能. シンポジウム「酸化ストレスとシグナル伝達」. 日本植物学会第68回大会研究発表記録 (講要) (2004)
- 道家紀志・吉岡博文・山溝千尋・口村和男・杉江頭一・沼田紀子・砂崎浩二・山下真生・川北一人・加藤新平 オキシダティブバーストへのシグナル伝達系制御による作物の耐病性化.- 疫病耐性ジャガイモの作出- . 「植物-病原微生物」公開シンポジウム「転写制御と耐病性」. pp. 15-17. (講要) (2004)
- 道家紀志・吉岡博文・山溝千尋・山下真生・川北一人 感染植物におけるオキシダティブバーストの分子機構とその防御応答統御. ワークショップ「植物免疫の分子機構」. 第27回日本分子生物学会年会プログラム p. 385. (講要) (2004)
- 伊藤靖浩・吉岡博文・小鹿一・道家紀志・川北一人 活性酸素生成を指標としたジャガイモ疫病菌エリシターの精製. 日植病報. 70 : 58. (講要) (2004)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

- 伊藤靖浩・吉岡博文・小鹿 一・道家紀志・川北一人 ジャガイモ疫病菌からの活性酸素生成エリシターの単離とその性質. 日植病報 70 : 199. (講要) (2004)
- 片山博之・吉岡博文・道家紀志・川北一人 シロイヌナズナにおける防御応答に関与するホスホリパーゼA₂ 遺伝子の発現解析. 日植病報. 70 : 207. (講要) (2004)
- 小林光智衣・吉岡博文・川北一人・道家紀志 Strbohタンパク質の細胞内局在性. 平成16年度日本植物病理学会関西支部会 : No. 108. (講要) (2004)
- 永井知佳子・吉岡博文・稲垣善茂・山本幹博・一瀬勇規・豊田和弘・白石友紀 アピラーゼは, *Nicotiana benthamiana* における細胞死を伴う防御シグナル経路には関与しない. 日植病報 70 : 207. (講要) (2004)
- Pinontoan, R., Tabata, R., Yoshioka, H., Kojima, C., Kawasaki, T. and Shimamoto, K. Regulation of NADPH oxidase by small G protein Rac in the plant defense response. Poster session, NIAR-COE/BRAIN/CREST Joint International Symposium "Plant Immunity" Signaling to acquired resistance. Tsukuba, Japan (2004)
- 刀祢千代里・中島和美・川北一人・道家紀志・吉岡博文 G6PDH発現と防御応答との関連について. 日植病報 70 : 200. (講要) (2004)
- 山溝千尋・口村和男・加藤新平・川北一人・道家紀志・小林 晃・吉岡博文 ファイトアレキシン合成遺伝子プロモータを利用した耐病性植物の作出. 日植病報 70 : 200. (講要) (2004)
- 山溝千尋・口村和男・加藤新平・川北一人・小林 晃・道家紀志・吉岡博文 ファイトアレキシン合成遺伝子プロモータを利用した耐病性組換えジャガイモ植物の解析. 平成16年度日本植物病理学会関西支部会 : No. 107. (講要) (2004)
- 山本文子・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 植物の感染防御応答におけるNOの関与とその生成系. 第15回日本生体防御学会学術総会 p. 40. (講要) (2004)
- 山本文子・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 タバコ懸濁培養細胞の感染防御応答におけるNO生成とその作用. 日植病報. 70 : 58. (講要) (2004)
- 山本文子・吉岡博文・道家紀志・川北一人 タバコ植物におけるエリシター応答NO生成へのNRの関与. 日植病報 70 : 200. (講要) (2004)
- 吉岡博文・山溝千尋・口村和男・加藤新平・川北一人・小林 晃・道家紀志 植物における活性酸素の役割. 第15回日本生体防御学会学術総会 p. 17. (講要) (2004)
- 出口友美・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 ジャガイモ植物におけるMAPキナーゼ (StMPK1) の脱リン酸化による活性制御. 日植病報. 69 : 248. (講要) (2003)
- 池田直希・加藤新平・川北一人・道家紀志・吉岡博文 植物の過敏感細胞死におけるMAPKカスケードの関与について. 日植病報. 69 : 248-249. (講要) (2003)
- 加藤新平・吉岡博文・川北一人・道家紀志 Virus-induced gene silencingによるPPS遺伝子の機能解析. 日植病報. 69 : 248. (講要) (2003)
- 大浦生子・川北一人・道家紀志・吉岡博文 エリシター応答性 36 kDaプロテインキナーゼによるStrbohBのリン酸化. 日植病報. 69 : 249. (講要) (2003)
- Pinontoan, R., Yoshioka, H., Kawasaki, T. and Shimamoto, K. Direct interaction of OsRac with NADPH oxidase regulates ROS production in defense signaling of rice. Plant Cell Physiol. 44 : s178. (講要) (2003)
- 刀祢千代里・中島和美・加藤新平・川北一人・道家紀志・吉岡博文 ジーンサイレンシングによるG6PDHの機能解析. 日植病報. 69 : 248. (講要) (2003)
- 山溝千尋・口村和男・加藤新平・道家紀志・吉岡博文 Agroinfiltration法によるPotato Veetispiradiene Synthase 3 遺伝子プロモータの機能解析. 日植病報. 69 : 249. (講要) (2003)
- 山溝千尋・口村和男・加藤新平・川北一人・道家紀志・小林 晃・吉岡博文 ファイトアレキシン合成遺伝子プロモータを利用した耐病性植物の作出. 科学研究費 特定領域研究「植物-微生物」平成15年度 若手の会, ポスター発表, 関西セミナーハウス, 京都市 (2003)
- 山溝千尋・口村和男・加藤新平・川北一人・道家紀志・小林 晃・吉岡博文 ファイトアレキシン合成遺伝子プロモータを利用した耐病性植物の作出. 感染生理談話会. ポスター発表, 犬山会館, 犬山市 (2003)
- 山本文子・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 植物の感染防御応答における一酸化窒素を介した情報伝達に関する研究. 感染生理談話会. ポスター発表, 犬山会館, 犬山市 (2003)
- 吉岡博文 オキシダティブバースト制御による耐病性植物作出に関する研究. 第2回日本農学進歩賞受賞者講演会, 東京大学農学部弥生講堂, 東京 (2003)
- 吉岡博文 シグナル伝達系酵素遺伝子を利用した耐病性植物の作出. 平成15年度東海植物病研究会, 愛知県農業共済会館, 名古屋市 (2003)
- 吉岡博文・道家紀志 植物の感染防御応答におけるオキシダティブバーストの機構と機能. 活性酸素の機能解明, 木原生物学研究所, 横浜 (2003)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

吉岡博文・口村和男・山溝千尋・池田直希・加藤新平・川北一人・小林 晃・道家紀志 宿主植物の抵抗性制御と糸状菌病に対する耐病性強化の展望. 作物の耐病性強化戦略と植物-病原体相互作用の分子機構研究. 感染生理談話会. 犬山会館, 犬山市 (2003)

道家紀志 植物の菌類病研究の現状と将来展望-感染生理学を中心として-. 植物-微生物相互作用研究の現状と将来展望(尾谷 浩・児玉基一郎編)日本植物病理学会. 東京. pp. 77-88. (2002)

道家紀志・吉岡博文 病原糸状菌-植物相互作用における宿主オキシダティブバースト系を巡る攻防. 第2回糸状菌分子生物学コンファレンス. pp. 16-17. (講要) (2002)

片山博之・竹本大吾・林 誠・西村幹夫・吉岡博文・道家紀志・川北一人 エリシター誘導性LRRレセプター様タンパク質 (EILP) 遺伝子を過剰発現させた形質転換タバコ植物における病害ストレスにおける応答. 日植病報. 68: 168. (講要) (2002)

加藤新平・山本文子・吉岡博文・川北一人・道家紀志 エリシター応答性MAPキナーゼの基質であるPhoM 1-7 遺伝子の単離とその発現解析. 日植病報. 68: 165. (講要) (2002)

Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Characterization of PhoM proteins phosphorylated by elicitor-responsive MAP kinase StMPK1 in vitro. Plant Cell Physiol. 43: s156. (講要) (2002)

口村和男・加藤新平・道家紀志・吉岡博文 Potato Vetispiradiene Synthase 3 遺伝子の単離およびジャガイモ培養細胞におけるプロモーター解析. 日植病報. 68: 166. (講要) (2002)

口村和男・小林 晃・山溝千尋・道家紀志・吉岡博文 ジャガイモ形質転換体を用いたPotato Vetispiradiene Synthase 3 遺伝子のプロモーター解析. 平成14年度日本植物病理学会関西部会: No. 117. (講要) (2002)

Nakajima, H., Nishimura, I., Nishimura, M., Doke, N. and Kawakita, K. In vitro processing of tobacco PR-proteins by vacuolar processing enzyme. Plant Cell Physiol. 43: s147. (講要) (2002)

沼田紀子・吉岡博文・中島和美・川北一人・道家紀志 ジーンサイレンシングによるタバコgp91phoxホモログの機能解析. 日植病報. 68: 169. (講要) (2002)

大浦生子・吉岡博文・加藤新平・川北一人・道家紀志 ジャガイモ塊茎組織における36 kDa Strbohキナーゼのリン酸化部位について. 日植病報. 68: 166. (講要) (2002)

山本文子・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 エリシター処理ジャガイモ懸濁培養細胞における一酸化窒素生成の検出. 平成14年度日本植物病理学会関西部会: No. 116. (講要) (2002)

山本文子・加藤新平・吉岡博文・道家紀志・川北一人 エリシター誘導性硝酸還元酵素遺伝子のジャガイモ植物における発現. 特定領域研究. 「植物-微生物」若手の会. P07. (講要) (2002)

Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N. and Kawakita, K. Expression of genes for elicitor-responsive nitrate reductase in potato. Plant Cell Physiol. 43: s157. (講要) (2002)

山下真生・沼田紀子・吉岡博文・川北一人・道家紀志 *Nicotiana benthamiana*植物におけるSAR誘導と活性酸素種の関係について. 平成14年度日本植物病理学会関西部会: No. 118. (講要) (2002)

吉岡博文 ナス科植物の過敏感反応における分子制御. 財団法人岩手生物工学研究センター第8回若手研究者セミナー. pp. 15-16. (講要) (2002)

Yoshioka, H. Perception of pathogen signals and molecular mechanisms for the oxidative burst. Plant Factors Regulating Infection by Pathogen, Plant Cell Physiol. 43: s4. (講要) (2002)

吉岡博文・口村和男・加藤新平・川北一人・豊田和弘・白石友紀・道家紀志 植物のオキシダティブバースト系制御による耐病性強化戦略. 見えてきた耐病性植物作出の戦略. pp. 24-28. (講要) (2002)

吉岡博文・沼田紀子・中島和美・口村和男・加藤新平・川北一人・道家紀志 ナス科植物におけるオキシダティブバーストの分子機構. 特定領域研究. 「植物-微生物」若手の会. S05. (講要) (2002)

吉岡博文・Owen Rowland・Jonathan D.G. Jones タバコ植物の防御応答におけるユビキチン依存タンパク質分解系の関与について. 日植病報. 68: 169. (講要) (2002)