

氏名	丸谷 瑞理
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第2963号
学位授与の日付	平成17年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i> の病原性機構の解析
論文審査委員	教授 一瀬 勇規    教授 白石 友紀    教授 杉尾 剛

#### 学位論文内容の要旨

本研究はタバコ野火病菌の病原性発現機構を解明するために、(1)タイプ III 分泌系路とフラジェリンの宿主における病原性及び非宿主に対する HR 誘導能、(2)環境応答の二成分制御系遺伝子である *gacS*、*gacA* の機能、(3)マイクロアレイ解析による野生株とべん毛変異株  $\Delta fliC$  の病原性遺伝子発現について解析した。

(1) タイプ III 分泌系路の構成単位である HrcC の欠失株  $\Delta hrcC$  及びべん毛変異との二重変異株  $\Delta fliC\Delta hrcC$ 、 $\Delta fliD\Delta hrcC$  を作成し、宿主及び非宿主に接種した。その結果、いずれの変異株も病原性が低下した。また、フラジェリン分泌株  $\Delta fliD$  と同様に  $\Delta fliD\Delta hrcC$  も HR 細胞死を誘導したことから、タイプ III 分泌系路及びべん毛が病原性には不可欠であること、フラジェリンが誘導する過敏感細胞死はタイプ III 分泌系路と独立していることが明らかとなった。

(2) 環境応答因子 *gacS*、*gacA* について変異株を作成したところ、いずれの変異株も Quorum sensing に必要な AHL の合成、AHL 合成遺伝子、毒素遺伝子、細胞外多糖の合成遺伝子の発現や、swarm 能や色素生産、病原性が低下し、Gac がこれらを制御しており、病原性発現に重要な因子であることが明らかとなった。

(3) 野生株と  $\Delta fliC$  のアレイ及びノーザン解析の結果、野生株に比べて  $\Delta fliC$  では、べん毛遺伝子、Quorum sensing に関わる遺伝子の発現は低く、多数の *hrp* 遺伝子、アルギン酸合成の負の制御遺伝子の発現は高かったことから *fliC* による病原性関連遺伝子発現の制御機構の存在が推察された。

以上の結果から、本菌は2 ステージの感染過程、すなわち第1 ステージ (べん毛運動による細胞間隙への侵入と増殖に伴った Gac の作用による Quorum sensing 機構と吸着) と、第2 ステージ (べん毛の発現が抑えられることによる、細胞外多糖の合成の抑制、*hrp* 遺伝子など発病因子の発現の誘導による病徴拡大) により病原性を発揮することが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

植物病原細菌の病原性因子にはべん毛による運動能の他、毒素生産能、*hrp*タイプIII分泌機構を介したエフェクター分子の生産能などが挙げられる。また、それらの発現制御には環境応答の二成分制御系や菌体密度感知機構が重要な役割を果たしていることが推察されている。本論文の内容は三段構成となっており、1つ目では*P. syringae* pv. *tabaci*のフラジェリンによる過敏感細胞死の誘導は本菌のタイプIII分泌機構から独立していることを明らかにしている。2つ目ではGac二成分制御系の遺伝子破壊株を用いて、Gac二成分制御系が菌体密度感知機構に必要なアシルホモセリンラクトンの合成や合成系遺伝子の発現、毒素の発現、細胞外多糖の合成、swarm能、色素生産などに必要であり、破壊株では病原性が著しく低下していることを見出した。また、これらGac変異株の一部の表現型は、野生株の液体培養上清を培地に供試することにより回復されたことよりアシルホモセリンラクトンを含む野生株の分泌物によって発現が制御されていることを明らかにしている。また3つ目では野生株と $\Delta$ *fliC*変異株について病原性関連遺伝子の発現を比較し、 $\Delta$ *fliC*変異株では多くの病原性遺伝子の発現が抑制されているものの、*hrp*遺伝子の発現は逆に活性化されていることより、病原性に必要な様々な遺伝子発現は感染の異なるステージにおいて、それぞれ異なった制御を受けているという仮説を提唱した。これらの結果は、植物病原細菌の病原性機構を病原性遺伝子の発現制御のレベルで明らかにしたものとして高く評価できるものである。本論文で提唱された仮説の実証には、今後様々な方面からの検証が必要と考えられるが、現時点において得られた結果を総合的に説明しうる仮説である。以上のことから、本論文は博士（農学）に値する論文であると判断した。