

氏 名	Kamrun Nahar
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4977号
学位授与の日付	平成26年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Functional analysis of Rip36 and HopH1 effectors of phytopathogenic bacteria on wild eggplant <i>Solanum torvum</i> (植物病原細菌のエフェクターRip36 と HopH1 の台木ナス <i>Solanum torvum</i> における機能解析)
論文審査委員	教授 一瀬勇規 准教授 山本幹博 准教授 豊田和弘 准教授 稲垣善茂

学位論文内容の要旨

The Gram-negative phytopathogenic bacteria *Ralstonia solanacearum* and *Pseudomonas syringae* deliver the effectors called virulence factors to elicit hypersensitive response (HR) in non-host or incompatible host plants or to cause disease in compatible host plants via type III secretion system. In this study, function of putative Zn-protease effectors Rip36 of *R. solanacearum* RS1000 and HopH1 of *P. syringae* pv. *tomato* (*Pto*) DC3000 and pv. *syringae* (*Psy*) B728a was investigated. Both effectors conserve a putative Zn-dependent protease motif with an active domain HExxH. RS1002, a spontaneous nalixidic acid-resistant derivative of RS1000, induced strong HR in the nonhost wild eggplant *Solanum torvum* in a Hrp-dependent manner. A *rip36*-defective mutant of RS1002 lost HR-inducing activity, and transient expression of Rip36 by an *Agrobacterium*-mediated system induced HR in *S. torvum* leaves. A mutation in the putative Zn-binding motif (E149A) completely abolished the ability to induce HR. Infiltration of *Pto* DC3000 and *Psy* B728a induced HR in *S. torvum*, but that of *P. syringae* pv. *phaseolicola* (*Pph*) 1448A did not. Because *Pph* 1448A does not possess *hopH1*, *hopH1* from *Pto* DC3000 and *Psy* B728a was introduced into *Pph* 1448A, and the resultant transformants acquired HR inducing activity. Although, E150A mutation in protease motif of HopH1 has no effect on the ability to induce HR on *S. torvum*, an additional mutation in protease motif E150A•H153A completely abolished the HR inducing activity of HopH1. These results indicate that HopH1 of *Pto* DC3000 and *Psy* B728a is also an avirulence determinant to induce HR on *S. torvum* and Zn-protease motif is essential for HopH1-induced HR like Rip36. Identification of target protein and demonstration of enzymatic activity will provide insight into the HR triggering mechanism of Rip36 and HopH1 on *S. torvum*.

論文審査結果の要旨

植物病原菌は一般のごく少数の植物種にのみ病気を引き起こし、侵される植物を宿主と呼ぶ。一方、ある病原体の宿主には決してなり得ない植物を非宿主と呼び、その絶対的な抵抗性を非宿主抵抗性というが、その遺伝的背景は複雑でその詳細は不明である。これに対し、病原体のレースと植物の品種レベルの組合せで決定される親和性／非親和性はレース・品種特異性といい、その遺伝的機構は遺伝子対遺伝子説により説明されている。植物病原細菌の場合、タイプ III 分泌システム (T3SS) を介して植物細胞に直接注入するエフェクターが非病原性遺伝子産物であり、あるエフェクターとそれに対応する抵抗性遺伝子産物が共に存在する組合せの場合に限り非親和性となり、激しい抵抗性応答が誘導されることが知られている。本研究では、まず、岡山県 RIBS の向原博士により同定されたナス科植物青枯病菌の 72 エフェクター遺伝子の中から本菌の非宿主であるナス台木植物トルバムビガーに過敏感反応 (HR) を誘導する遺伝子 *rip36* を見出した。Rip36 は Zn 依存性プロテアーゼのモチーフ (HExxH) を有し、このモチーフに変異を導入することにより HR 誘導活性を失うことから Rip36 の HR 誘導能には Zn 依存性プロテアーゼ活性が必要であることが推察された。本モチーフを保存するエフェクターとしては他に *Pseudomonas syringae* の HopH1 がこれまでに報告されている。そこで全ゲノム情報が明らかな *P.syringae* の 3 つの病原型細菌 *P.syringae* pv. *tomato* DC3000, pv. *syringae* B728a, pv. *phaseolicola* 1448A を供試して、これらの非宿主トルバムビガーに接種すると *hopH1* 遺伝子を有す DC3000 と B728a は HR を誘導するものの *hopH1* を持たない 1448A は HR を誘導しないことを見出した。そこで 1448A に DC3000 あるいは B728a 由来の *hopH1* 遺伝子を導入すると得られた形質転換体は全て HR 誘導能を獲得した。このことは Rip36 と同様に HopH1 も非宿主植物に対する HR 誘導の決定因子として機能していることを明確に示している。以上のことから植物病原細菌の T3SS エフェクターはレース・品種特異性の決定に関わるだけでなく非宿主抵抗性をも担うことが判明し、この成果は高く評価できる。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。