

氏名	田村 尚之
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3045号
学位授与の日付	平成17年 9月30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	植物病原細菌 <i>Ralstonia solanacearum</i> の <i>hrpB</i> 依存性遺伝子の網羅的単離と機能解析
論文審査委員	教授 白石 友紀 教授 一瀬 勇規 助教授 豊田 和弘

学位論文内容の要旨

植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* が植物に感染する際、タイプ III 分泌装置(TTSS)から分泌されるタイプ III エフェクター (エフェクター) は、植物への感染や病徴進行に重要な役割を担うことが知られている。しかし *R. solanacearum* を含む多くの植物病原菌では、エフェクターの総数や機能には不明な点が多い。

申請者は、遺伝子の読み枠をトラップするトランスポゾンを用いて、*R. solanacearum* のエフェクターを網羅的にスクリーニングするシステムを構築した。新規に構築したトランスポゾンベクター-pTNP105 を RS1000 株に導入してスクリーニングを試み、培地条件及びエフェクター遺伝子の発現を制御する転写アクチベーターHrpB に依存する 21 個の遺伝子を単離することに成功した。この中には植物病原菌、動物病原菌で既に知られているエフェクター(6 個)、真核生物に広く分布するロイシンリッチリピートタンパク質(5 個)や既知の酵素と相同性を有する遺伝子(4 個)が単離された。

これらの遺伝子が TTSS 依存的に菌体外に分泌されることを確認するため、HrpB を恒常的に高発現する変異菌株をスクリーニングにより単離した。さらにそれぞれの推定エフェクター遺伝子に抗原決定基を付加した変異菌株を作成し、分泌タンパク質の生成に適した培地・培養条件を作成し、推定エフェクターの免疫学的検出を試みた結果、既知エフェクターホモログが TTSS 依存的に分泌されていることを確認できた。さらにこれまで知られていなかった酵素モチーフを有する遺伝子産物も分泌されていることを確認した。

菌体外分泌が確認された遺伝子の欠損株を親和性のナス品種に接種して病徴の進行を経時的に調査したところ、一部のエフェクター欠損株で病徴進行が1-2日遅延することが明らかになった。今回のスクリーニングにより単離されたエフェクターには、部分的ではあるがナスへの病原性に関与する遺伝子が含まれていることが明らかになった。

論文審査結果の要旨

本論文は、多数の作物の重要病原細菌 *Ralstonia solanacearum* の病原力システムの解明を目指したものである。本菌のタイプIII分泌装置(TTSS)から分泌されるエフェクターは、感染や病徴進行に重要な役割を担うことが、ゲノム解析から推定されていた。しかし、実際のエフェクターの分泌量は極めて少なく、エフェクターの総数や機能、また TTSS を介した分泌の有無に関する解明は進んでいなかった。田村氏は、遺伝子の読み枠をトラップするトランスポゾンベクターpTNP105をRS1000株に導入してエフェクターの網羅的スクリーニングに挑戦し、転写アクチベーターHrpBに依存する21個の遺伝子を単離することに成功した。この中には、植物病原菌、動物病原菌で既に知られているエフェクター(6個)、真核生物に広く分布するロイシンリッチリピートタンパク質(5個)、既知の酵素と相同性を有する遺伝子(4個)が見いだされている。さらに、HrpBを恒常的に高発現する変異菌株の単離、それぞれの推定エフェクター遺伝子に抗原決定基を付加した変異菌株の作成、分泌タンパク質の生産に適した培地・培養条件の検討など新たな実験系の作成とこれを用いた解析から、既知エフェクターホモログがTTSS依存的に分泌されていることを証明した。また、これまで知られていなかった酵素モチーフを有する遺伝子産物が分泌されることや菌体内に留まるタンパク質があることも発見した。さらに、菌体外分泌が確認されたエフェクターの遺伝子欠損株を親和性ナス品種に接種し、これらが部分的にはあるが、病原性に関与することをはじめて明らかにした。以上の成果は、2報の国際学術誌(計IF8以上)や口頭発表で公表されている。これらの研究実績を審査した結果、博士(農学)の学位に値すると判定した。