



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Regulatory Mechanism of Pectic Enzyme
Produced by Erwinias

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: MD. MANJURUL HAQUE メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2690

氏名(本国籍)	MD. MANJURUL HAQUE (バングラデシュ人民共和国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第 349 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 10 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物環境科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	Regulatory Mechanism of Pectic Enzyme Produced by <i>Erwinias</i> (<i>Erwinia</i> 属細菌が生産するペクチナーゼ生産制御機構)
審査委員会	主査 静岡大学 教授 露 無 慎 二 副査 静岡大学 教授 瀧 川 雄 一 副査 岐阜大学 教授 百 町 満 朗 副査 信州大学 教授 大 政 正 武

論文の内容の要旨

軟腐性 *Erwinia* 属細菌は、その主要な発病因子としてペクチナーゼを種々環境条件に対応して生産する。本論文では、PhoP-PhoQ TCS は、大腸菌やサルモネラ菌等のヒト病原細菌に於いて、種々環境要因に対応して 40 程の遺伝子が制御されることによって発病に導かれることが知られているが、ゲノム解析が進む *E. chrysanthemi* (Ech) 3937 株を用いても、PhoP-PhoQ Two component 制御機構 (TCS) がこの環境条件への対応を司るものであることを明らかにしている。本論文では、軟腐性 *Erwinia* 属細菌において、これら環境要因がどのようにして病原性に関与するのかを明らかにすることを目的としている。

Ech 3937 株の野生型、*phoP* 及び *phoQ* 欠損変異株、これら変異株の相補株を分離し、これらを種々環境条件下で培養して、病原性及びペクチン酸リアーゼ、ポリガラクトナーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼの生産に及ぼす影響について解析を行った。その結果、これらの変異株において、病原性が顕著に低下すると同時に、ポリガラクトナーゼの生産が著しく低下していたが、通常の誘導条件下では、他の酵素の生産は野生型と変異株との間で差がなかった。しかし、低マグネシウム条件、低 pH、低濃度のピルビン酸の条件で培養すると、本病原細菌の主要なペクチン酸リアーゼ (PL) の超誘導が野生型では見られたが、上記変異株では、この超誘導が見られなかった。なお、低濃度のクエン酸、酢酸の存

在下では、この超誘導が変異株では見られたが、野生型では見られなかった。一方、高マグネシウム、中性以上の pH、低濃度のピルビン酸の条件下では、野生型で PL の超誘導が見られなくなったのにもかかわらず、上記変異株でこの超誘導が見られるようになった。これらの環境条件は、植物のアポプラストのそれらとよく一致することから、本病原細菌は、PhoP-PhoQ Two Component Regulatory System (TCR) を用いてアポプラスト環境要因を察知して、PL 超誘導を可能にすることにより病原性に導くことが示唆された。この解釈を確認するため、本論文では、本病原細菌をあらかじめ種々培地で前培養した後、洗浄後同培地に懸濁して、接種試験を行い、*in vitro* の PL の超誘導条件下で前処理した場合は、野生型菌も変異株とも大きな病斑を形成するのに対し、超誘導を抑える条件下前処理した場合は、両菌とも病斑形成が著しく抑えられることがわかった。なお、ペクチン酸リアーゼには、数種のアイソザイムが存在するが、超誘導は特定のアイソザイムにおいてのみ見られることを見いだした。さらに、本論文では、有機酸の種類によって、超誘導が見られたり、みられなくなることに着目し、この原因が細胞内アセチル CoA の量にあるのではないかと考え、その生合成経路の遺伝子の発現について RT-PCR で解析をおこない、この可能性を示唆する結果を得ている。

審 査 結 果 の 要 旨

軟腐性 *Erwinia* 属細菌では、その主要な発病因子であるペクチナーゼの生産に種々環境要因が影響を及ぼすことが知られているが、本論文では、これらの影響が PhoP-PhoQ Two component 制御機構 (TCS) によることを *E. chrysanthemi* 3937 株の *phoP* 及び *phoQ* の変異株を用いて明らかにしている。PhoP-PhoQ TCS は、大腸菌やサルモネラ菌等のヒト病原細菌に於いて、種々環境要因に対応して 40 程の遺伝子が制御されることによって発病に導かれることが知られている。また、植物病原細菌に於いても、本 TCS が重要な役割を果たすことが報告されている。本論文では、軟腐性 *Erwinia* 属細菌において、これら環境要因がどのようにして病原性に関与するのかについて、詳細な解析を行っている。

具体的には、Ech 3937 株の野生型、*phoP* 及び *phoQ* 欠損変異株、これら変異株の相補株を種々環境条件下で培養して多方面から解析を行った結果、低マグネシウム条件、低 pH、低濃度のピルビン酸の条件で培養すると、野生型では、本病原細菌の主要なペクチン酸リアーゼ (PL) の超誘導が見られたが、上記変異株では、この超誘導が見られなかった。なお、低濃度のクエン酸、酢酸の存在下では、この超誘導が野生型で見られなかった。一方、高マグネシウム、中性以上の pH、低濃度のピルビン酸の条件下では、野生型で PL の超誘導が見られなくなるのにもかかわらず、上記変異株でこの超誘導が見られるようになった。

た。これらの環境条件が植物のアポプラストのそれらとよく一致することから、本病原細菌は、PhoP-PhoQ Two Component Regulatory System (TCR)を用いてアポプラスト環境要因を察知して、PL 超誘導を可能にすることにより病原性に導くことが示唆された。この解釈を確認するため、本論文では、本病原細菌をあらかじめ種々培地で前培養した後、洗浄後同培地に懸濁して、接種試験を行い、*in vitro* の PL の超誘導条件下で前処理した場合は、野生型菌も変異株とも大きな病斑を形成するのに対し、超誘導を抑える条件下前処理した場合は、両菌とも病斑形成が著しく抑えられることがわかった。さらに、本論文では、有機酸の種類によって、全く超誘導が見られなくなることに着目し、この原因が細胞内アセチル CoA の量にあるのではないかと考え、その生合成経路の遺伝子の発現について RT-PCR で解析を行い、この可能性を示唆する結果を得ている。以上のことより審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位の基礎となる論文：

1) Md. Manjurul Haque and S. Tsuyumu, Virulence, resistance to magainin II, and expression of pectate lyase are controlled by the PhoP-PhoQ two-component regulatory system responding to pH and magnesium in *Erwinia chrysanthemi* 3937. J. Gen. Plant Pathol. (2004, in print)

2) Md. Manjurul Haque, A. Yamazaki, and Shinji Tsuyumu, Presence of two cascades, starting from PhoP-PhoQ two-component regulatory system, regulates synthesis of pectate lyase in response to different organic acids in *Erwinia chrysanthemi* 3937. J. Gene. Plant Pathol. (2004. In print).