



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Xanthomonas属細菌の avr/pth遺伝子ファミリーの機能解析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 藤川, 貴史 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/3095

氏名(本国籍)	藤川 貴史 (京都府)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第 398 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第 3 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	<i>Xanthomonas</i> 属細菌の <i>avr/pth</i> 遺伝子ファミリーの機能解析
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 助教授 久 我 ゆかり

審 査 結 果 の 要 旨

多くのグラム陰性植物病原細菌は、タイプ III 分泌機構(Type Three Secretion System, TTSS)によって、様々なエフェクタータンパク質を分泌し、さらには植物細胞内に注入することが知られている。エフェクタータンパク質のうち、品種特異的抵抗性反応を誘導するものが非病原力因子があり、*avr* 遺伝子がこれらの生産を司る。*Xanthomonas* 属細菌の多くが共通して生産する *AvrBs3/PthA* ファミリーエフェクターは、互いに相同性が極めて高いにも関わらず、品種特異的抵抗性反応を誘導するものもあれば、カンキツかいよう病菌の *PthA* のように病徴発現に関与するものもある。このことから、少なくとも本エフェクターグループは、わずかな環境の違いに応じて、上記のように全く正反対の反応の双方を司る可能性が考えられた。最近、いくつかの *Pseudomonas syringae* グループの *Avr* タンパク質や抵抗反応を誘導するエリシタータンパク質 (*HOP* タンパク質) 等で、植物の抵抗反応を抑える働きを持つものが報告されてきている。そこで、上記 *AvrBs3/PthA* ファミリータンパク質が、このようなサプレッサー機能を持つか否かについて調べている。方法としては、植物に病原性を持たない植物随伴細菌である *Pseudomonas fluorescens* に、クラスターとなっているタイプ III 分泌機構関連遺伝子群 (*hrp*) をもつコスミドクローンを導入し、この形質転換体がタバコ葉で一般(非宿主)抵抗性反応を誘導して、過敏反応細胞死(Hypersensitive Cell Death, HR)を誘導することを確認した後、この形質転換体にさらに *avrBs3/pthA* 遺伝子グループに属する *avrXa7*, *avrXa10*, 及び *apl1* のいずれかをもつプラスミドを導入した。これらの二重形質転換体をタバコに接種すると、HR を誘導できなくなる事を発見した。申請者は、さらに抵抗性反応の様々な側面での抑制を調

べるため、植物体内菌数、活性酸素種の生成、フェニルアラニン・アンモニアリアーゼの生産誘導、植物細胞壁局在性アピラーゼ、パーオキシダーゼの活性、各種抵抗性関連遺伝子の発現誘導等に及ぼす影響についても調べて、上記 *avrBs3/pthA* 遺伝子ファミリーのサプレッサー機能の確認を行ったばかりでなく、これらの抑制の標的が抵抗性反応の極初期にある事を見いだしている。また、*avrBs3/pthA* 遺伝子ファミリーのタバコ葉内における一過性発現から、これらの遺伝子産物は、植物の核に局在すること、また、このエフェクターがもつ核局在配列の変異株は、サプレッサー活性を失う事を発見している。さらに、申請者は、その他の植物病原細菌の *avr* 遺伝子についても、同様な解析によってサプレッサー活性を持つ事を見だし、多くの *avr* 遺伝子が二つの機能を有する事を発見した。

以上の研究は、植物の品種特異的抵抗性誘導を司る *avr* 遺伝子が、本来の抵抗性誘導の機能を有するばかりでなく、他の原因によって誘導される抵抗性誘導を抑制するという、植物-病原細菌の相互作用に全く新しい知見を導きだした意義は大きいと、判断される。

審 査 結 果 の 要 旨

植物品種の特定病原菌グループ（レース）に対する特異的抵抗性反応は、病原菌側の非病原力遺伝子とこれに対応する植物側の抵抗性遺伝子の組み合わせの時にのみ見られる。これまで非病原力遺伝子がエリシターを生産し、抵抗性遺伝子がこれに特異的に結合するレセプターを生産すると考えられてきた。本論文は、この非病原力遺伝子がエリシター生産としての機能を持つばかりでなく、この機能とは全く逆の抵抗性反応を抑制するサプレッサーとしての機能を持つことを初めて明らかにしたものである。この発見は、病原菌が自分を殺すための信号を何故持ち続けるのかというこれまでの謎を解き明かすものであり、大変注目を集めている。

具体的には、植物に病原性を持たない *Pseudomonas fluorescens* に、植物病原細菌の各種エフェクターを細菌細胞から分泌し、さらに植物細胞内に注入するタイプ III 分泌機構の構成成分を生産する *hrp* 遺伝子群のコスミドクローンをまず導入し、この形質転換体に *Xanthomonas* 属細菌に広く分布する *avrBs3/pthA* 非病原力遺伝子ファミリーを追加導入し、この二重形質転換体の抵抗性反応の誘導に及ぼす影響を調べている。その結果、*hrp* 遺伝子群のみ持つ形質転換体が示した非宿主抵抗性反応が、いずれの *avrBs3/pthA* 遺伝子を余分にもつ二重形質転換体はこの抵抗性反応が全く見られなくなる事を発見した。このことから、これらの遺伝子がこのシステムにおいてサプレッサーとして機能する事が考えられたので、活性酸素種の生成等の抵抗性反応初期反応やフェニルプロパノイド系の酵素群の生産増強や関連遺伝子等の転写増大のいずれもが抑制される事を確

認している。また、*avrPto* 等のその他の非病原力遺伝子についても同様な解析を行い、広範な非病原力遺伝子がサプレッサー活性を持つ事を見だし、「非病原力遺伝子の二元説」を提唱した。これらの研究成果は、品種抵抗性反応の誘導機構を解明し、遺伝子操作による耐病性品種作成に重要な示唆を与えるものである。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) Fujikawa, T., H. Ishihara, J.E. Leach, and S. Tsuyumu, Suppression of defense response in plants by *avrBs3/pthA* gene family of *Xanthomonas* species. *Mole. Plant-Microbe Interact.* (2005 in print)
- 2) Fujikawa, T., T. Yamashita and S. Tsuyumu, HR suppression by Type III effectors of plant pathogenic bacteria. *J. Gene. Plant Pathol.* (2005 in print).

国際学会プロシーディングス：

- 1) Fujikawa, T., H. Ishihara, and S. Tsuyumu, Suppression of active defense resistance in non-host plants by *avr/pth* gene in xanthomonads. 8th International congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand (2003)
- 2) Fujikawa T., Ishihara H., Komai K., Sasaki N. and Tsuyumu S. Mechanism involved in virulence function of avirulence genes of plant pathogenic bacteria. 11-th International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions (2003)
- 3) T. Fujikawa, H. Ishihara and S. Tsuyumu, Dual function of *avrBs3/pthA* genes of xanthomonads. 9th US-Japan Science Seminar (2003)