



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

植物病原

Xanthomonas属細菌の発病及び品種特異的抵抗性反応誘導の分子機構

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 石原, 博通 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2684">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2684</a>

氏名(本国籍)	石原博通(静岡県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第343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	植物病原 <i>Xanthomonas</i> 属細菌の発病及び品種特異的 抵抗性反応誘導の分子機構
審査委員会	主査 静岡大学 教授 露無慎二 副査 静岡大学 助教授 茶山和敏 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

植物病原細菌 *Xanthomonas* 属細菌の多くは、互いに相同性が非常に高い *avrBs3/pthA* 遺伝子ファミリーを持つ。本遺伝子ファミリーの大多数は、品種特異的抵抗性反応を誘導するものであるが、カンキツかいよう病菌 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* では、この遺伝子ファミリーは、病徴発現(かいよう形成)に直接かかわる。本遺伝子ファミリーは、遺伝子中央部の15~30個からなるタンデムな繰り返し配列部、ロイシンリッチ領域、核移行性配列(NLS)、酸アクティベーションドメインを持つことで共通している。即ち、僅かな配列の違いが、発病と抵抗性という相反する反応を引き起こしたり、宿主特異性をあらわしたりする。そこで、本論文では、この選択性がどの部分の違いによるのかを明らかにするため、イネ白葉枯れ病菌の品種特異的抵抗性反応を司る *avrXa7* 及び *avrXa10* 遺伝子、カンキツかいよう病菌の病原性を司る *apl1* 及びそのホモログでありながら、病原性を示さない *apl2* 遺伝子を材料にして、各ドメイン断片を貼り合わせた16種のキメラ遺伝子を作成し、これらのキメラ遺伝子を *avrXa7*, *avrXa10* を持たないイネ白葉枯れ病菌及び *apl1* を持たないカンキツかいよう病菌の病原性欠損変異株に形質転換した。これらの形質転換体を、*avrXa7* の遺伝子対遺伝子説でカウンターパートとなる抵抗性遺伝子 *Xa7*, *avrXa10* のカウンターパートとなる抵抗性遺伝子 *Xa10* をそれぞれ持つアイソジーニックなイネ品種に接種して、抵抗性誘導の有無、病原性発現について調べる実験、2) カンキツ(ナツダイダイ)の葉に接種して、かいよう形成の有無、その他の病徴発現の有無、抵抗性反応の誘導の有無について調べる実験を行った。その結果、上記ドメインの繰り返し配列部が宿主特異的抵抗性反応誘導の主要な役割を果たしているが、ロイシンリッチ領域もこの宿主特異性に関与す

ることを明らかにした。また、この領域付近には、カンキツにおけるかいよう形成に重要な働きを持つ新たなドメインが存在することを明らかにし、宿主特異性決定機構に重要な示唆を与えた。

次に、カンキツかいよう病菌がかいようを形成する際に、病斑部では細胞肥大、細胞異常分裂が見られていたが、これは、動物におけるがん化反応として類似するものではないかと考えた。そこで、病徴発現とともにテロメラーゼの活性を測定してみると、本酵素の活性が顕著に上昇することを見いだしている。この発見は、テロメラーゼがかいよう形成において重要な働きを持つことを示唆するものとして、大変注目される。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本学位論文は、植物病原細菌である *Xanthomonas* 属細菌の病原性関連遺伝子について、詳細に解析したものである。特に、これらの細菌の多くが共通して持つ *avrBs3/pthA* 遺伝子ファミリーについて、これらの遺伝子が互いに非常に高い相同性を示すにもかかわらず、病原細菌と植物の組み合わせによって、発病・抵抗性誘導という全く相反する反応を示すことに着目している。この謎を解くために、本論文では、カンキツかいよう病菌 *X. axonopodis* pv. *citri* の発病遺伝子 *apl1* (*pthA*) と、これに高い相同性を示しながら弱或非発病遺伝子(*apl2*, *apl3*) と、イネ白葉枯病菌 *X. oryzae* pv. *oryzae* の品種特異的抵抗性反応を司る *avrXa7* 及び *avrXa10* 遺伝子との間で種々キメラ遺伝子を作成した。この作成にあたっては、これらの遺伝子に共通した四つの機能ドメイン「15~30連なる102塩基のタンデムな繰り返し配列部、ロイシンリッチ領域、核移行性配列(NLS)、酸性アクティベーションドメイン(AAD)」の機能確認、宿主選択性、抵抗性誘導能、発病能などの機能を発揮する際の特異性決定に果たす役割の解析、さらには、これら以外の未知ドメインの発見を狙うものであった。作成した多数のキメラ遺伝子を、カンキツかいよう病菌では、かいよう形成を喪失した病原性欠損変異株に、*avrX7*, *avrXa10* 遺伝子を持たないイネ白葉枯病菌に、それぞれ形質転換し、これらの形質転換体を前者の宿主カンキツ(ナツダイダイ)と、後者の宿主である *avrXa7*, *avrXa10* にそれぞれ対応した抵抗性遺伝子 *Xa7* 或は *Xa10* を持つニアアイソジニックラインのイネ品種に接種し、それぞれの場合の発病と抵抗性誘導について、詳細な解析を行っている。その結果、上記繰り返し配列がイネ品種における抵抗性誘導の特異性決定に重要な発見をしていることを見事に示した。また、この品種特異性決定及びかいよう形成(発病力)には、ロイシンリッチ領域付近に新たな重要ドメインが存在することを発見している。また、カンキツかいよう症状を呈するにあたって、一般に罹病部の組織が細胞

肥大と異常分裂が見られることを一種の「がん化」反応と捉えて、テロメラーゼの活性が上昇することを発見し、テロメラーゼのかいよう形成への役割についても重要な発見をしている。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。基礎となる学術論文：

- 1) H. Ishihara et. al. Functional analysis of the 3' end of *avrBs3/pthA* genes from two *Xanthomonas* species. *Physiol. Mole. Plant Pathol.* 63:329-338 (2004)
- 2) H. Ishihara et. al. Increase in telomerase activity in citrus inoculated with *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. *J. Gen. Plant Pathol.* (in print).

その他の論文：

- 1) G. Ponciano, H. Ishihara, S. Tsuyumu and J.E. Leach. Bacterial effectors in plant disease and defense: Keys to durable resistance? *Plant Disease* 87: 1272-1282 (2003)