

学位論文審査の結果の要旨

氏名	岡 久美子
審査委員	<p>主査 尾谷 浩 (印)</p> <p>副査 児玉基一朗 (印)</p> <p>副査 田中 秀平 (印)</p> <p>副査 荒瀬 榮 (印)</p> <p>副査 中島 廣光 (印)</p>
題目	宿主特異的毒素生産菌の感染に関する植物成分とその病理学的役割
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>特定の病原菌は特定の植物種あるいは植物品種などを選択的に侵害して病害を引き起こす。このような明確な特異性を決定する病原菌の因子として、宿主特異的毒素 (HST) の存在が明らかとなっている。HST 生産菌では病原菌からシグナル因子としての HST の放出があり、それを受容せざるを得ない植物のみが病原菌を受け入れ、感染が成立すると考えられているが、このような病原菌の感染成立の過程には種々の植物成分が関与するものと思われる。本研究は、HST 生産菌の感染に関する植物成分を明らかにし、その病理学的役割について検討したものである。</p> <p>アブラナ科植物黒すす病菌 (<i>Alternaria brassicicola</i>) が生産するタンパク質 HST (AB 毒素) は宿主葉上の孢子発芽時にのみ検出されることより、発芽孢子からの AB 毒素生成には宿主植物が関与していることが示唆された。そこで、各種植物葉上より得た <i>A. brassicicola</i> 孢子発芽液 (SGF) の AB 毒素生成誘導活性を調べると、宿主葉上から得た SGF にのみ活性がみられた。また、SGF における誘導活性は孢子発芽直後より検出され、その後、AB 毒素が SGF 中に放出されること、SGF のみを処理した宿主葉からの浸出液にも誘導活性がみられることから、宿主植物葉上では宿主由来の誘導因子が SGF 中に遊離し、発芽孢子がそれを認識して毒素を生成するという図式が想定された。さらに、SGF 中の誘導因子を各種クロマトグラフィーにより精製し、GC および GC-MS の分析から、本因子は D-マンノースおよび D-ガラクトースからなる約 1.3 kDa の配糖体であることが明らかとなった。また、誘導因子を処理して得た SGF を SDS-PAGE で解析した結果、誘導因子によって発芽孢子から AB 毒素のみが生成されることが確認された。なお、病原菌が宿主植物成分を認識して HST を生成するという例は世界で最初の発見である。</p> <p><i>A. brassicicola</i> は高濃度孢子懸濁液 (106 個/ml 以上) の場合、宿主葉上では顕著な発芽を示すが、非宿主葉およびプラスチックプレート上ではほとんど発芽せず、本菌の孢子発芽にも宿主植物成分の関与が示唆された。そこで、各種植物葉上より得た <i>A. brassicicola</i> SGF の孢子発芽促進活性を調べると、宿主葉上より得た SGF にのみ顕著な活性が認められた。また、活性は孢子接種 2 時間後から検出され、その後、孢子は発芽を開始することより、孢子が宿主植物葉に接触すると孢子発芽促進因子が宿主葉から放出されるものと思われた。さらに、SGF から各種クロマトグラフィーにより孢子発芽促進因子の精製を試みた結果、本因子は約 600 Da の物質であることが明らかとなった。なお、本実験の過程で、トマト葉中には <i>A. brassicicola</i> の孢子発芽を顕著に阻害する物質の存在が見出されたので、各種クロマトグラフィーにより孢子発芽阻害物質を精製し、それがトマトに存在する抗菌性サポニンの α-トマチンであると同定された。</p>	

HST 生産菌の中でトマトの病原菌にはトマトアルターナリア茎枯病菌 (*A. alternata* tomato pathotype) とトマト褐色輪紋病菌 (*Corynespora cassiicola*) がある。そこで、各種 *A. alternata* および *C. cassiicola* の孢子発芽に対する α -トマチンの影響を調べた結果、*A. alternata* ではトマトに対する病原性に関係なく全ての菌が、*C. cassiicola* ではトマト褐色輪紋病菌のみが α -トマチンに抵抗性を示し、トマトに非病原性の *C. cassiicola* (キュウリ褐斑病菌およびシンソ斑点病菌) は、 α -トマチンに感受性であった。また、 α -トマチンに抵抗性である *A. alternata* および *C. cassiicola* の発芽孢子は α -トマチンを極性の低い物質に分解した。次に、トマト褐色輪紋病菌が生産する HST (CCT 毒素) の感染誘導作用をトマトに非病原性の各種 *A. alternata* および *C. cassiicola* の孢子を用いて調べた。その結果、CCT 毒素は α -トマチンに抵抗性の *A. alternata* のトマト葉への感染を誘導したが、 α -トマチンに感受性の *C. cassiicola* の感染を誘導しなかった。一方、トマトに非病原性の *C. cassiicola* の孢子を α -トマチン分解活性を有する *A. alternata* の SGF 中に懸濁すると、CCT 毒素は *C. cassiicola* のトマト葉への感染を誘導した。以上の結果より、HST を生産するトマトの病原菌が感染を成立させるためには、HST 生産以外に α -トマチン解毒能力も必須であることが実証された。

以上のように、本論文は、HST 生産菌の感染に関与する植物成分に着目し、病原菌の孢子発芽、HST 生成、感染阻止などに植物成分が関与することを明らかにした。得られた成果は、植物病原菌の感染機構の理解に貢献するばかりでなく、病害防除戦略の確立という応用面からも高く評価することができ、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。