

学位論文審査の結果の要旨

氏名	山岸 大輔
審査委員	主査 児玉基一郎 ㊞
	副査 前川二太郎 ㊞
	副査 伊藤 真一 ㊞
	副査 尾谷 浩 ㊞
	副査 荒瀬 榮 ㊞
題目	植物病原菌 <i>Alternaria alternata</i> における病原性関連因子の分子解析
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>植物病原菌が宿主植物上において感染成立に至る過程には、菌が植物との共進化の過程で獲得した様々な発病因子、すなわち病原性関連因子が関与している。このような病原性因子としては宿主特異的毒素 (HST) が知られており、HSTは特定の宿主植物の認識に関わる特異的病原性関連因子であると考えられている。一方、感染器官形成、酵素生産など菌が広く具備する一般的病原性 (力) が関係する発病力も、植物病原菌の病原性において重要な要因である。そこで本研究では、植物病原菌の感染戦略を包括的・総合的に理解することを目的として、necrotroph植物病原菌として世界的に大きな被害をもたらしている <i>Alternaria alternata</i> を題材に、HST生産に依存する特異的病原性、また、シグナル伝達系が関与する一般的病原性 (力) の両者に関して、分子レベルの解析を試みた。</p> <p>トマトアルターナリア茎枯病菌 (<i>A. alternata</i> tomato pathotype) は、宿主特異的AAL毒素を生産し、特定のトマト品種に対してのみ茎枯病を引き起こす。一方、本菌においては、主に <i>Gibberella</i> 属菌が生産するマイコトキシンであるフモニシン (fumonisin) の生産システムが存在すると報告されている。両化合物の化学構造および生物活性は類似しており、スフィンガニンアナログマイコトキシン (SAM) と呼称されている。そこで、世界各地から分離された茎枯病菌株を用いて、SAM生産能、毒素生合成遺伝子である <i>ALT1</i> および <i>FUM1</i> 保有の有無、およびそれらと病原性との関連を調査した。フモニシンは感受性トマト葉に壊死を誘起し、感染誘導活性も有していた。また、供試したすべての茎枯病菌は <i>ALT1</i> を保有しAAL毒素を生産したが、一方、すべての菌株においてフモニシン生産および <i>FUM1</i> 保有は認められなかった。以上の結果より、SAMは一般的に感受性トマト葉に対して毒性および感染誘導能を有するが、茎枯病菌株においてはAAL毒素のみが病原性発現に関与していることが示唆された。</p> <p>また、茎枯病菌における HST の病理学的意義を明確にするためには、毒素生産能を特</p>	

異的に欠失させた形質転換体の利用が有効である。そこで、*ALT1* をジーンターゲットイング法によって破壊した AAL 毒素生産能欠損株と、毒素構造類縁体であるフモニシンの解毒酵素フモニシンエステラーゼ遺伝子 (*ESPI*) を発現させた茎枯病菌の形質転換体を用いて、野生株との比較により病原性に対する影響を検討した。その結果、遺伝子破壊株および *ESPI* 遺伝子導入株では AAL 毒素が検出されず、宿主トマトに対して病斑形成の減少が認められた。以上の結果より、本菌においては、AAL 毒素生産能のみが一義的に特異的病原性発現を担っていることが明らかとなり、将来、感受性トマトへの毒素分解能の付与により抵抗性育種が可能であることが示唆された。

他方、一般に病原菌による植物への感染には、特異的病原性以外にも一般的病原性因子として、生物が普遍的に保有するヘテロ三量体 GTP 結合蛋白質 (G 蛋白質) などシグナル伝達系が関与している例が知られている。そこで、宿主特異的 AM 毒素を生産するリンゴ斑点落葉病菌 (*A. alternata* apple pathotype、落葉病菌) を題材として、G 蛋白質 α サブユニット ($G\alpha$) 遺伝子のクローニングと機能解析を試みた。PCR 法およびライブラリースクリーニングにより $G\alpha$ 遺伝子全長を単離した (*AGAI* と命名)。*AGAI* は $G\alpha$ ファミリーに属しており、*A. alternata* 各菌株に広く分布していた。さらに、遺伝子ターゲットイングにより作出した *AGAI* 破壊株では、コロニー形態、孢子形成能および形態が野生株と異なっていた。また、感染器官形成に関して、野生株では孢子周縁からランダムに形成される発芽管が、破壊株では孢子両端から 1~2 本形成されたのみであり、発芽管の分枝は著しく減少し、直線的に伸長した。*AGAI* 破壊株の AM 毒素生産能は野生株と同等であったが、宿主リンゴ葉上における形成病斑数は減少した。また、*AGAI* 破壊株においては、細胞内 cAMP 濃度が野生株と比較して増加していたことから、アデニル酸シクラーゼを負に制御することが示唆された。以上の結果より、*AGAI* は本菌の形態形成過程に関与し、病原性にも影響を及ぼすことが明らかとなった。

以上のように、本論文は、病原性 *A. alternata* における HST 生産に依存する特異的病原性、また、シグナル伝達系が関与する一般的病原性 (力) の両者に関して、分子レベルでの解析を行ったものである。得られた成果は、植物病原糸状菌の感染ストラテジーの理解に貢献するのみならず、病害防除法の確立に繋がる応用面からも高く評価でき、学位論文として十分な価値を有すると判定した。