

研究テーマ：イネ白葉枯病菌のポストゲノム 「ゲノム情報に基づく病原性関連分泌蛋白質の探索と発病制御への応用に向けて」	
研究代表者（職氏名）：教授・奥 尚	所属：生命環境学部生命科学科
共同研究者（職氏名）：京都府立大学大学院・講師・津下誠治、宮崎大学・准教授・津野和宣、(独)農業生物資源研究所・主任研究官・落合弘和	

【背景と目的】

イネ白葉枯病は *Pseudomonas* 菌科に属するイネ白葉枯病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) によって起こり、アジアをはじめとした世界各国でイネの最重要細菌病害として知られている。イネ白葉枯病菌は植物に感染する際、タイプⅢ分泌装置 (Type three secretion system : TTSS) と呼ばれる輸送経路を介してタンパク質 (エフェクター) を植物細胞内へ分泌すると考えられている。エフェクターには一般的に宿主植物に対する病原性の有無に関連するものがある。しかし、イネ白葉枯病菌ではどのようなタンパク質が植物細胞内へ分泌され、どのような作用を引き起こすかは明らかにされていない。

そこで本研究ではイネ白葉枯病菌から TTSS 依存で植物細胞内へ分泌されるエフェクターを明らかにするため、イネ白葉枯病菌のゲノム情報から既知エフェクターと相同性が認められるタンパク質や分泌が推定されるタンパク質をコードする遺伝子を検索した。そして、それらのタンパク質とカルモジュリン依存アデニル酸シクラーゼ (Cya) との融合タンパク質を作成し、Cya レポーターシステムにより TTSS を介した植物細胞内への分泌について検討した。

【実験方法】

一般に TTSS エフェクター分泌シグナルは N 末端の 150 アミノ酸までに含まれると考えられている。そこで、イネ白葉枯病菌のゲノム情報から既知エフェクターと相同性を示す少なくとも 21 を含む 209 の ORF を選抜し、その ORF の推定プロモーター領域とその 5' 末端コード領域をそれぞれ約 450bp 含む遺伝子断片を PCR により増幅する。そして Cya との融合タンパク質を発現できる広宿主域プラスミド pHMCya にクローニングした後、イネ白葉枯病菌 T7174R 株に形質転換した。各形質転換体をイネおよびトマトに剪葉接種または注入し、接種部より 1cm の葉片をすりつぶし、植物細胞内における cAMP の蓄積を調べた。

【結果と考察】

現在までに XOO0148, XOO0315, XOO1136, XOO1662, XOO1669, XOO2875, XOO3150, XOO3222, XOO4042 および XOO4208 の TTSS 依存分泌が確認された。

XOO0148 は植物に過敏感反応を引き起こすと考えられている AvrBs2 と、XOO0315 および XOO3150 は *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* において植物へ感染後の病原菌の増殖に関連していると考えられている XopN と、XOO1669 は *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* の HopAA1 (HopPtoA1) の一部と、XOO3222 は XopP と、XOO2875 および XOO4042 は XopX と、XOO4208 は XopQ と相同性を示した。しかし、これら相同性を示した各 Xop などのタンパク質の植物細胞内での詳細な働きは明らかとなっていない。このことから、今回 TTSS 依存分泌が確認された 10 のタンパク質の詳細な機能解明を行う必要がある。

【今後の展開】

今回明らかとなった TTSS 依存性分泌タンパク質がイネ白葉枯病菌の病原性に関連があるかどうかを確認するため、トランスポゾンによりこれらのタンパク質をコードする遺伝子を欠損させた変異体を作成している。今後、各変異体をイネに接種することにより、病原性に変化が生じるかを確認したい。