

【審査結果の要旨】

熱帯アジアを中心に、世界の稲作地帯で大きな被害をもたらしている白葉枯病菌の病原力には多くの遺伝子とそれを制御する因子が関与することが明らかとなってきた。本研究では、宿主の防御応答の抑制・攪乱に関与する *hrp* 遺伝子群の発現制御に関わる 2 つの新規制御遺伝子を同定するとともに、本遺伝子群の新たな制御機構を見出している。一方、宿主植物体内における様々なストレスへの耐性も細菌の病原力に重要である。ここでは、低酸素濃度を感知し、各種ストレスに対する耐性の増大に関わる因子を同定し、それが本細菌の病原力に関与することも明らかにしている。これらの成果はイネ白葉枯病菌の病原力機構、ならびにそれに関する遺伝子発現制御機構の解明に大いに寄与するものである。

Chapter 1 では、序論として、本研究の背景となる植物病害防除における植物病原細菌の病原力機構研究の重要性を示し、白葉枯病菌の病原力に関わる遺伝子とその発現制御機構に関する現在までの知見と未解明な点について述べ、本論文の意義と目的を明らかにした。

Chapter 2 では、白葉枯病菌の最重要病原力遺伝子群 *hrp* の発現に必須である *hrpG* の転写を制御する新規因子として H-NS (histon-like nucleoid structuring) 様タンパク質 XrvB を見出している。*hrp* 遺伝子群はタイプ III タンパク質分泌装置(T3SS)の構成成分をコードしており、本装置を介して直接植物細胞内に分泌されるタンパク質 (エフェクター) が宿主イネの防御応答を抑制・攪乱することで感染が可能になる。また、*hrp* 遺伝子群は、それらを直接制御する HrpX、ならびに *hrpX* の発現を制御する HrpG と呼ばれる 2 つの因子に制御され、感染時特異的に発現することが知られている。白葉枯病菌のもつ H-NS 様遺伝子である *xrvB* を欠損させた変異株では、*hrpG* の発現増加と、それにとまなう *hrpX* や *hrp* 遺伝子群の発現、さらにエフェクタータンパク質の分泌量の増加が確認された。本結果は、XrvB が *hrpG* の発現を負に制御することにより、*hrp* 遺伝子群の発現を抑制する機能を持ち、イネへの感染時にはその抑制が解除されることを示唆している。

Chapter 3 では、キシロース存在下における HrpX の特異的な蓄積増加が、*hrp* 遺伝子群の発現誘導を引き起こすことを明らかにしている。白葉枯病菌をキシロース存在下で培養したところ、キシロース非存在下で培養した時と比較して、*hrp* 遺伝子群の発現は増加していたにもかかわらず、それを制御する HrpX と HrpG の発現に顕著な増加は認められなかった。一方、両条件下における HrpX の蓄積を比較したところ、キシロース非存在下でその蓄積量が著しく減少していた。また、他の糖の有無にかかわらず、キシロースの添加により、HrpX の蓄

積増加と *hrp* 遺伝子群の発現増加が確認された。これらの結果は、白葉枯病菌の *hrp* 遺伝子群の発現制御の1つとして、これまで知られていなかった HrpX の量的制御（蓄積抑制）の存在を見出すとともに、量的制御の抑制因子としてキシロースが重要な役割を果たしていることを示している。

Chapter 4 では、Chapter 3 で述べたキシロース依存的な HrpX の量的制御に、キシラン/キシロース代謝関連遺伝子群の発現を負に制御する LacI 型転写制御因子 XylR が関与することを明らかにしている。XylR 欠損変異株では、HrpX の蓄積と *hrp* 遺伝子の発現が、キシロースの有無にかかわらず同程度になった。また、XylR はキシラン/キシロース代謝関連遺伝子群のプロモーター領域に存在するモチーフ配列へ結合することでその転写を抑制し、その抑制がキシロース存在下で解除されることを示した。白葉枯病菌が侵入・増殖するイネ導管内は貧栄養条件にあるが、一方でイネの細胞壁は多量のキシロース/キシランを含むことが報告されている。このような環境条件下で本細菌は、キシロースによる XylR の不活化を介して、キシラン/キシロース代謝関連遺伝子群の発現増加により栄養を獲得するとともに、未知遺伝子の発現増加と未知タンパク質分解酵素の活性抑制により HrpX の蓄積と *hrp* 遺伝子群の発現を促し、その結果、宿主防御応答を抑制・攪乱することで感染を成立させることが示唆された。

Chapter 5 では、環境刺激を感知し、そのシグナルを下流の遺伝子発現等に伝達する機能をもつ二成分制御系因子の一つである StoS が、低酸素条件下で活性化し、高浸透圧、高塩濃度、および H₂O₂ に対するストレス耐性、さらには病原力に関与することを見出している。StoS 変異株は野生株と比較し、上記のストレス条件下での生存率が低下するとともに、培地中での増殖遅延と、定常期以降の生存率の急激な低下が見られた。さらに、低酸素濃度条件下で、ストレス応答に関わる遺伝子の発現誘導に関与することが明らかにされた。以上の結果は、各種ストレスに対する耐性が白葉枯病菌の増殖・生存・病原力に重要であり、そのストレス耐性の誘導因子の一つとして低酸素シグナルがあることを示唆している。

Chapter 6 では、総合考察として、Chapter 2、3、4、および 5 で述べられた新知見に既知の情報も加えて、感染過程において適切に制御される白葉枯病菌病原力関連遺伝子群の発現制御ネットワークについて考察している。具体的内容は以下の通りである。白葉枯病菌の *hrp* 遺伝子群の発現は、HrpX とさらにそれを制御する HrpG と呼ばれる 2 つの因子によって制御される。また、*hrpG* の発現に関与する因子もいくつか報告されてきている。本研究ではこれらに加え、環境刺激に応じて種々の細菌遺伝子の発現を制御するグローバルレギュレーターとし

て知られる H-NS 様タンパク質 XrvB もまた、*hrpG* の発現制御に関わることを明らかにした(Chapter 2)。さらに、これまでに知られていなかった、*hrp* 制御因子 HrpX の量的制御が存在すること(Chapter 3)、そして、それがキシラン/キシロース代謝関連遺伝子群と同一の負の制御因子 XylR により、同時に制御されることを明らかにした(Chapter 4)。イネ導管内に侵入した直後の感染極初期には、白葉枯病菌は貧栄養条件、そして宿主の防御応答に曝される。そこで本細菌は、イネ細胞壁に多量に含まれるキシロース、あるいは遊離キシロースを利用し、XylR を不活化することで、キシラン/キシロースを栄養源とする初期増殖を可能にするとともに、*hrp* 遺伝子群の発現にともなう T3SS を介したエフェクターの分泌により、宿主防御応答を抑制・攪乱し、効率的に感染を成立させていると考えられる。一方、感染成立後の導管内での爆発的な増殖の際、細菌は宿主防御応答の結果生じる酸化ストレスをはじめとする様々なストレスに曝されると考えられる。そのような環境条件下で二成分制御系因子の一つである StoS は低酸素濃度を感知し、ストレス耐性に関わる遺伝子発現を誘導することにより、白葉枯病菌のイネ導管内での生存と増殖に重要な役割を果たしていると考えられる(Chapter 5)。以上のように、本研究の成果は、白葉枯病菌の病原力関連遺伝子群の発現制御ネットワークの全体像解明に向けて重要な知見をもたらすものである。また特に、*hrp* 遺伝子群の発現は、本細菌の感染に必須であることから、本研究で見出された新規 *hrp* 制御因子ならびにその制御機構は、それをターゲットとする薬剤開発といった新たな防除技術開発の可能性を提示している。

以上、本論文は、イネ白葉枯病菌において病原力機構ならびにそれに関する遺伝子発現制御機構における新たな知見を得ており、博士学位論文として価値があるものと判断した。

6 最終試験の結果の要旨

平成 31 年 2 月 5 日午後 1 時より稲盛記念会館視聴覚室において博士学位論文発表会を公開で行った。口頭発表後、質疑応答が行われた。質問は植物病害防除における研究の意義、結果の解釈、今後の課題など多岐にわたってなされたが、申請者は全ての質問に対し、適切に回答を行った。最終試験の結果については、審査員全員一致で合格とした。

7 学力の確認の結果

別紙に記載するように、学力確認を行った結果、合格とした。

以上