

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07667

研究課題名(和文) 3型分泌系遺伝子発現を遮断するアンタゴニスト創成に向けた植物シグナルの探索

研究課題名(英文) Screening of plant signals inducing hrp regulon in *Ralstonia solanacearum*

研究代表者

大西 浩平 (Ohnishi, Kouhei)

高知大学・教育研究部総合科学系生命環境医学部門・教授

研究者番号：50211800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：青枯病菌の主要な病原性因子である3型分泌装置および3型エフェクターをコードする遺伝子群はhrpレギュロンとして統一した発現調節を受けている。hrpレギュロンのマスターオペロンはhrpBであり、hrpB遺伝子発現は植物体内でのみ起こる。本研究はhrpB遺伝子発現を誘導する植物シグナルの探索を最終目的としているが、その過程において、hrpBの上流に位置する二成分制御系のレスポンスレギュレーターHrpGのリン酸化を初めて明らかにし、対応するセンサーキナーゼ候補を特定した。またhrpB-lacZレポーター株を構築することで、hrpB発現を誘導する植物シグナルの探索への道筋をつけることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

青枯病菌は、主要な栽培作物を始め、200種類以上の宿主植物に感染し、萎ちょう症状を引き起こす難防除病害菌である。青枯病菌の感染時に特異的に働くhrpレギュロンを抑制することができれば、完全に防除が可能である。本研究は、hrpレギュロンを誘導する植物シグナルのアンタゴニストの開発につながり社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Genes encoding the type 3 secretion system and the type 3 effector, which are the major virulence factors of bacterial wilt disease in *Ralstonia solanacearum*, are subjected to unified expression regulation as a hrp regulon. The master operon of the hrp regulon is hrpB, and hrpB gene expression occurs only in planta. The purpose of this study is to search for plant signals that induce hrpB gene expression. In the process, we revealed phosphorylation of the response regulator HrpG, which is a two-component regulatory system upstream of hrpB, for the first time, and identified the candidates of corresponding sensor kinases. Moreover, by constructing and using the hrpB-lacZ reporter strain, it was possible to establish a route to search for plant signals that induce hrpB expression.

研究分野：微生物分子遺伝学

キーワード：植物シグナル レポーター株 GFP LacZ 静止菌体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グラム陰性細菌である青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) などの植物病原細菌は、土壤中で腐生的に生育している場合と比べ、宿主である植物体内に侵入した後では、遺伝子発現のパターンを大きく変化させることが示されている^{1, 2)}。青枯病菌の感染初期には、侵入した根の細胞間隙において、3型タンパク質分泌装置を構築し、3型エフェクターを分泌する。この過程は感染の成立に必須であり、3型分泌装置を構築できない変異株は完全に病原性を失う³⁾。3型タンパク質分泌装置を構成するタンパク質やエフェクタータンパク質をコードする遺伝子は *hrp* 遺伝子群 (*hrp* レギュロン) として発現が調節されている。*hrp* レギュロンの発現は植物体内においてのみ起こる。すなわち、青枯病菌は、植物体内において何らかの植物シグナルを感知することで、植物シグナル-受容タンパク質-細菌細胞内シグナル伝達-*hrp* レギュロン発現という一連の情報伝達経路を活性化すると考えられている。

グラム陰性細菌のシグナル受容タンパク質のうち遺伝子発現に関与するのは、主に Two-component system (二成分制御系) sensor histidine kinase (HK) や TonB-dependent receptors (TBDR) であることが知られている。このうち、二成分制御系は外界刺激を感知して自己リン酸化される細胞膜タンパク質の HK と、HK によってリン酸化され細胞の反応を制御する応答制御因子 (response regulator: RR) のペアからなる。TBDR は、グラム陰性菌における鉄やビタミン B₁₂ の取り込みに関与した外膜タンパク質として知られているが、シグナル情報伝達を行う ECF シグマ因子-アンチシグマ因子とカップルした TonB-dependent transducer (TBDT) も含まれている⁴⁾。

研究開始当初、*hrp* レギュロンの発現は転写調節因子 HrpB により正に制御され、その遺伝子 *hrpB* の発現は TBDT である外膜タンパク質 PrhA から始まり二成分制御系の RR である HrpG で終わるシグナルカスケード(C1)により制御されていることが示されていた⁵⁾。青枯病菌日本株 OE1-1 を用いて研究を行ってきた結果、多機能転写調節因子 PhcA により C1 が抑制されること⁶⁾、リン酸化部位であるアスパラギン酸が HrpG の転写活性に重要であることを明らかにした⁷⁾。更に RR である PrhG によって *hrpB* の発現が制御されるカスケード C2 も存在し⁸⁾、これを調節する因子 PrhKLM、PrhN を新たに発見した^{9, 10)}。しかしながら、HrpG、PrhG に対応するシグナルを受容するタンパク質 HK および植物シグナルは見つかっていない。更には、PrhA が認識する植物シグナルも未知である。

こうした研究過程において、細菌細胞内における遺伝子発現 (アウトプット) に関しては詳細に解明できたが、シグナル受容 (インプット) に関しては、未解明の部分が多いことを認識し、シグナル受容タンパク質に焦点をあてた逆遺伝学的解析を開始した。44 個の HK および 15 個の TBDR それぞれの 1 遺伝子欠失株を作製し、*hrp* レギュロンの発現量を解析した。その結果、野生株と比較して、*hrp* レギュロンの発現量が顕著に低い変異株は見いだせなかった。こうした現象は、*Xanthomonas* 属細菌における同様の研究においても報告されており、受容体の冗長性 (redundancy) を示すものとして捉えられる。そこで、従来の研究手法だけでは、インプットである植物シグナル、シグナル受容タンパク質を見いだすことは難しく、別の手法を組み合わせることの重要性を認識するに至った。

2. 研究の目的

青枯病菌の感染初期過程において必須の病原力因子である 3 型分泌装置の構築を誘因する植物シグナル、ならびにそのシグナルを受容する青枯病菌タンパク質を同定する。

(1) これまでに作製したシグナル受容タンパク質 HK 遺伝子欠失株の解析結果から、複数の HK が *hrp* レギュロンの活性化に関わっているという予備的な結果を得ている。そこで、複数 HK 遺伝子欠失株を構築し、RR である HrpG と PrhG のリン酸化への関与を検定し、植物シグナル受容 HK の同定を行う。一方、TBDR については、*hrp* レギュロンの発現に関係した分子は PrhA 以外にはないことが判明したため、本研究では PrhA のみに焦点を当てる。

(2) 宿主植物の根から、細胞壁に局在するタンパク質などの固体成分、細胞間隙成分を分画し、青枯病菌レポーター株を用い、*hrp* レギュロンの発現が上昇する画分を特定する。また、ピアコアなどの分子間相互作用解析法により、PrhA や (1) で同定される HK に結合する因子の直接的な検証も行い、植物シグナルの同定を試みる。

3. 研究の方法

これまでに作製した HK 受容体タンパク質遺伝子欠失株は、40 株以上ある。これらすべてについて植物体内における *hrp* レギュロン発現解析を行う。遺伝子欠失株は *hrp* レギュロンの発現をモニターするための *popA-lacZ* レポーター株を親株として構築されている。*popA* は *hrp* レギュロンを構成するオペロンのひとつで、レポーター遺伝子 *lacZ* の発現量を解析することで、それぞれの細胞における *hrp* レギュロンの発現を容易にモニターすることができる。検定菌培養液を宿主であるナスの葉に接種後、一定時間後に、注入部位を切り取り、葉をビーズですりつぶし、細胞間隙で生育した青枯病菌を取り出す。レポーター遺伝子由来の β-ガラクトシダーゼ活性を、植物由来の酵素活性と区別するため、発光基質を用いるミノメーターで測定する。

前項で選別された株において欠失している HK 遺伝子をそれぞれ複数欠失するマルチ遺伝子欠失株を作製する。例えば、選別された株が 3 種類であれば、2 種類ずつ欠失した株と 3 種類すべて欠失した株、合計 4 株を作製することになる。抗生物質耐性遺伝子の挿入を伴わない青

枯病菌遺伝子欠失の方法について、我々は十分な経験を有しており、既に数多くの欠失株を構築している。

前項で作製するマルチ変異株を用いてナスの葉における *hrp* レギュロンの発現をモニターする。野生株と比較して顕著に発現が減少する欠失株が存在するかどうか検定する。そうした株が得られた場合には、2以降の解析に進むが、顕著に減少する株が得られなかった場合には、新たに候補遺伝子を選別し、さらにマルチ欠失株を構築することを繰り返す。

二成分制御系におけるリン酸化リレーの検出法として、本研究では Phos-tag を用いたリン酸化タンパク質検出法を用いる。HrpG と PrhG は相同性が高く、作製した特異抗体は、相互に交叉反応したことから、本研究では RR に FLAG タグを付加し抗 FLAG 抗体を用いて検出する。HrpG と PrhG の各 C 末端側に FLAG タグを付加した融合タンパク質を発現する青枯病菌株を構築するためのプラスミドは既に作製済みである。野生株において HrpG-FLAG-tag もしくは PrhG-FLAG-tag 発現株を構築し、ナスの葉に注入する。β-ガラクトシダーゼ活性の測定の場合と同様に、葉から青枯病菌を回収し、菌体内でのそれぞれの RR のリン酸化を調べる。

hrp レギュロンの発現を *lacZYA* の代わりに GFP 遺伝子をレポーターとして用い、蛍光プレートリーダーを利用して多検体スクリーニングに供する。ナスの根や葉の細胞の細胞壁成分を界面活性剤によって可溶化したものを、膜系成分とする。また、根の細胞間隙成分を遠心により調製したものを、液性成分とする。調製した各成分をレポーター株の培養液に添加し、*hrp* レギュロンの発現上昇が見られる画分を特定する。この画分に含まれる分子をクロマトグラフィーなどの方法で精製する。

4. 研究成果

HrpG タンパク質の推定上のリン酸化部位である 51 番目のアスパラギン酸をアスパラギンに置換した RK5216 株 (*hrpGD51N* 変異株) は *hrp* レギュロンに属する *popA* 発現量が低下し、それに伴い病原力が低下する。*hrpGD51N* 変異株と同程度に *popA* 発現が低下するセンサーカイネース変異株を探索した。各センサーカイネース変異株を植物体内に葉肉接種し、*popA* 発現量を測定した。その結果、*rsc1075* 変異株、*rsp1676* 変異株、*rsc0039* 変異株、*rsc1598* 変異株の *popA* 発現が親株に比べてわずかではあるが低下していた。4 種類の遺伝子すべてを欠損させた変異株を作製したところ *popA* 発現が顕著に低下した(図 1)。2 遺伝子変異の組み合わせの結果、*rsc0039* と *rsc1598* の 2 遺伝子が同時に変異すると 4 遺伝子変異と同等の発現低下が見られることがわかった(図 1)。これらの変異株は病原力の低下も認められた。しかしながら、*hrp* レギュロンの発現が誘導されることが知られている 3% Plant suc 培養液を用いた培養条件では 4 遺伝子変異株の *popA* 発現の減少は起こらなかった。また、HrpG によって発現が直接制御される *hrp* レギュロンの転写調節因子 *hrpB* の発現も、植物体内においては、4 遺伝子変異株では野生株に比べて半分程度まで減少していたのに対し、試験管内では有意な差が見られなかった。

HrpG タンパク質の細胞内での挙動を解析するために、C 末端側に FLAG-tag を付加した HrpG-FLAG を発現する青枯病菌株を構築した。同時に推定リン酸化部位の変異体 HrpGD51N-FLAG 発現株も構築した。FLAG-tag を融合した HrpG が機能を維持しているか調べるため、*hrpG* 変異株 RK5196(*pop-lacZYA* を持つ)において HrpG-FLAG を発現させたところ、*popA* の発現が確認された。このことは、C 末端側に FLAG-tag を付加しても、HrpG が機能することを示している。構築した菌株を富栄養培地 (B 培地)、*hrp* 誘導培地、*Arabidopsis thaliana* 共培養で培養し菌体を回収した。回収後、菌体を超音波破碎し、タンパク質を回収し、SDS-PAGE 用のサンプルに調製した。回収したサンプルを用いて Western blotting による解析を試みた結果、いずれの培養条件においても、予想される 33kDa 付近に HrpG が検出された。また、HrpG が検出されたサンプルを通常の SDS-PAGE 用のゲルではなく、Phos-tag PAGE 用のゲルで電気泳動し、HrpG のリン酸化検出を試みた。しかしながら、いずれの培地で培養した菌体においても、HrpG のリン酸化は見られなかった。そこで、植物体内に接種した菌体における HrpG のリン酸化検出を試みた。その結果、野生株においてのみ、リン酸化された HrpG が検出され、他の菌株からにおいては、リン酸化は見られなかった(図 2 レーン 1)。

植物シグナル同定のための、レポーター株として *hrpB* のプロモーターの下流に GFP 遺伝子を導入した融合株を野生株、*hrpG* 変異株、*hrpG prhG* 変異株のバックグラウンドのもとに作成した。また GFP を恒常的に発現する株をコントロールとして用いた。それぞれの株を一晩培養し、同じ菌体濃度となるように炭素源を含まない最少培地に懸濁し、無菌的に栽培したタバコ植物の幼苗を加え植物シグナルとした。その結果、幼苗を加えない場合に比べて、GFP の発光量は有意に増加し、また変異株においては、増加が見られなかった。しかしながら、GFP 恒常的発現株に比べると、発光量は弱く、今後の植物シグナル成分の分画への適用は難しいと判断した。そこで、活性測定操作は煩雑となるが、*lacZ* をレポーターとする比色定量に変更した。その結果、GFP をレポーターとした場合と同様に、幼苗を加えた時には *LacZ* の発現が有意に増加し、また *hrpG* 変異株、*hrpG prhG* 変異株では、発現量が著しく減少した(図 3)。植物シグナルであるタバコ幼苗の有無での *LacZ* 活性の違いは十分に大きく、今後のシグナル分子の探索に十分適用可能であることが明らかとなった。

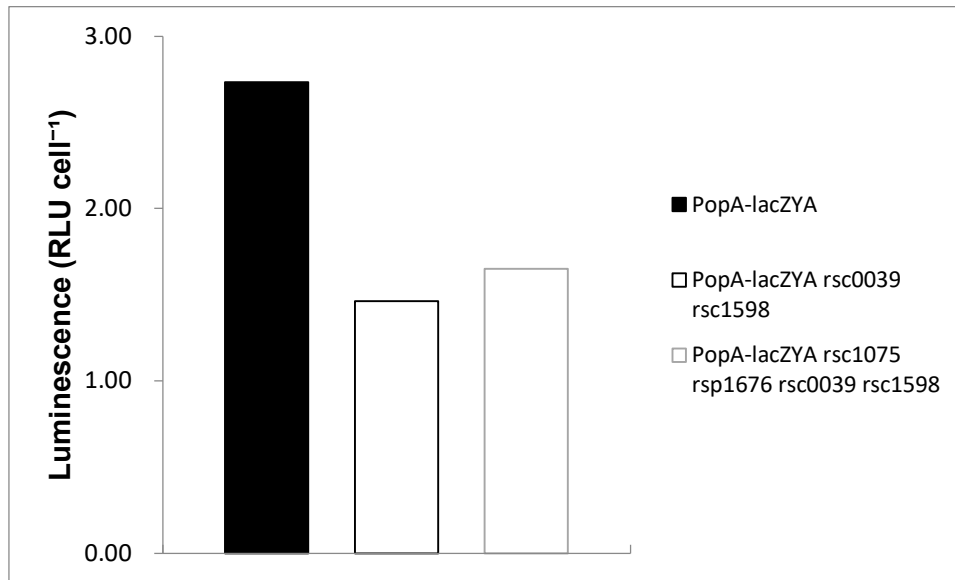


図1 植物体内における4遺伝子変異株、2遺伝子変異株の *popA* 発現量測定

10^7 , 10^8 cfu/ml に調整した青枯病菌をナスの葉に接種し、24 時間後に青枯病菌を回収した。その青枯病菌の *popA* 発現量および菌数を示している。縦軸は発光量を示し。同一菌数 (10^5 cell number/cm²) 時の発光量を示している。

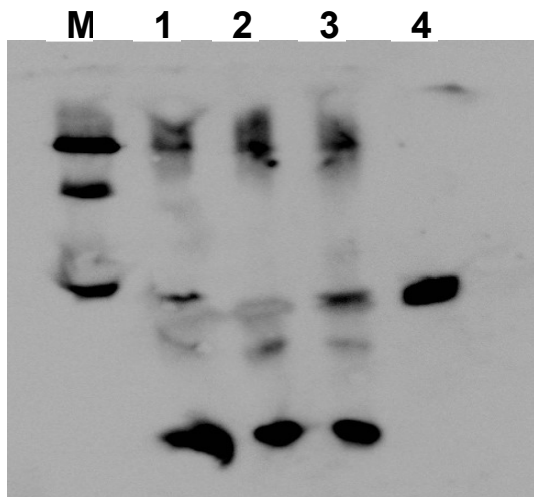


図2 植物体内のリン酸化 HrpG 検出(Phos-tag PAGE)

Lane 1:RK8317, lane 2:RK8318, lane 3:RK8322, lane 4: BL21/*hrpG*-flag

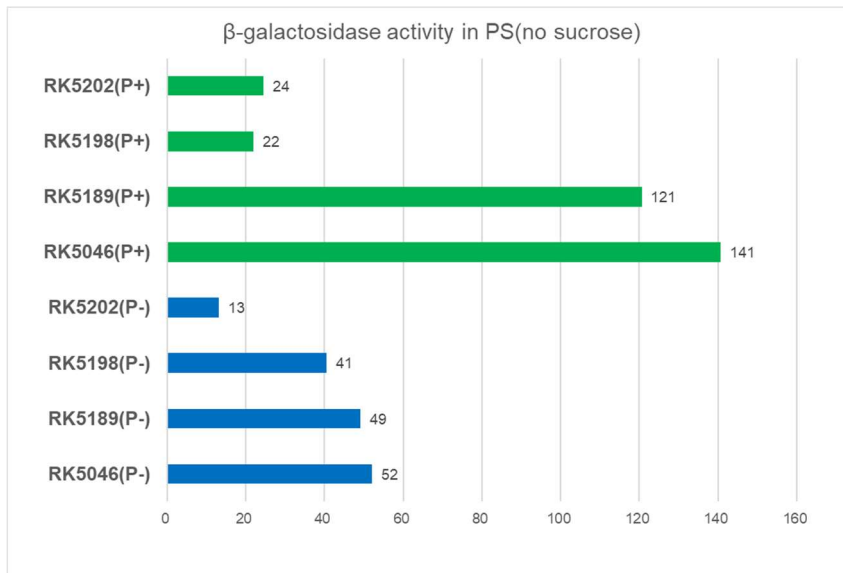


図3 *hrpB-lacZ* レポーター株 resting cell とタバコ幼苗の共培養

一晚培養した核菌株を 0.1OD₆₀₀ となるように炭素源を含まない最少培地に懸濁したのち、無菌的に培養したタバコ幼苗と混合した。25°Cで 30 時間反応したのち、菌体を回収し、常法に基づき LacZ 活性を測定した。RK5406; 野生株, RK5189; *prhG*, RK5198; *hrpG*, RK5202; *hrpG prhG*

<引用文献>

1. The in planta transcriptome of *Ralstonia solanacearum*: conserved physiological and virulence strategies during bacterial wilt of tomato. Jacobs JM, Babujee L, Meng F, Milling A, Allen C. *MBio* **3**, e00114-12 (2012)
2. A luminescent reporter evidences active expression of *Ralstonia solanacearum* type III secretion system genes throughout plant infection. Monteiro F, Genin S, van Dijk I, Valls M. *Microbiology* **158**, 2107-2116 (2012)
3. Type III secretion machinery-deficient mutants of *Ralstonia solanacearum* lose their ability to colonize resulting in loss of pathogenicity. Kanda A, Ohnishi S, Tomiyama H, Hasegawa H, Yasukohchi M, Kiba A, Hikichi Y. *J Gen Plant Pathol* **69**, 250-25J (2003)
4. TonB-dependent outer-membrane proteins and siderophore utilization in *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. Hartney SL, Mazurier S, Kidarsa TA, Quecine MC, Lemanceau P, Loper JE. *Biometals*, **24**, 193-213 (2011)
5. A bacterial sensor of plant cell contact controls the transcriptional induction of *Ralstonia solanacearum* pathogenicity genes. Aldon D, Brito B, Boucher C, Genin S. *EMBO J*, **19**, 2304-2314 (2000)
6. The pleiotropic regulator PhcA negatively controls expression of the first component of a regulatory cascade necessary for *Ralstonia solanacearum* *hrp* regulon induction. Yoshimochi T, Hikichi Y, Kiba A, Ohnishi K. *J Bacteriol* **191**, 3424-3428 (2009)
7. Induction of the response regulator *hrpG* gene expression and activation of HrpG are controlled by distinct signal cascades in *Ralstonia solanacearum*. Yoshimochi T, Zhang Y, Kiba A, Hikichi Y, Ohnishi K. *J Gen Plant Pathol* **75**, 196-204 (2009)
8. Functional analysis of *Ralstonia solanacearum* PrhG regulating the *hrp* regulon in host plants. Zhang Y, Chen L, Yoshimochi T, Kiba A, Hikichi Y, Ohnishi K. *Microbiology* **159**, 1695-1704 (2013)
9. *prhKLM* genes of *Ralstonia solanacearum* encode novel activators of *hrp* regulon and are required for pathogenesis in tomato. Zhang Y, Kiba A, Hikichi Y, Ohnishi K. *FEMS Microbiol Lett* **317**, 75-82 (2011)
10. PrhN, a putative marR family transcriptional regulator, is involved in positive regulation of type III secretion system and full virulence of *Ralstonia solanacearum*. Zhang Y, Luo F, Wu D, Hikichi Y, Kiba A, Igarashi Y, Ding W, Ohnishi K. *Front Microbiol* **6**, 357 (2015)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Bhakta Jatindra N., Lahiri Susmita, Bhuiyana Feroze A., Rokunuzzaaman Md., Ohnishi Kouhei, Iwasaki Kozo, Jana Bana B.	4. 巻 3
2. 論文標題 Profiling of heavy metal(loid)-resistant bacterial community structure by metagenomic-DNA fingerprinting using PCR-DGGE for monitoring and bioremediation of contaminated environment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Energy, Ecology and Environment	6. 最初と最後の頁 102 ~ 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40974-017-0079-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Chen Li, Dahal Amol, Zhang Yong, Rokunuzzaman Md, Kiba Akinori, Hikichi Yasufumi, Ohnishi Kouhei	4. 巻 102
2. 論文標題 Involvement of avirulence genes <i>avrA</i> and <i>popP1</i> of Japanese <i>Ralstonia solanacearum</i> strains in the pathogenicity to tobacco	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological and Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 154 ~ 162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.pmp.2017.12.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Zhang Yong, Li Jiaman, Zhang Weiqi, Shi Hualei, Luo Feng, Hikichi Yasufumi, Shi Xiaojun, Ohnishi Kouhei	4. 巻 19
2. 論文標題 A putative LysR-type transcriptional regulator Prh0 positively regulates the type III secretion system and contributes to the virulence of <i>Ralstonia solanacearum</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 1808 ~ 1819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/mpp.12660	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Mori Yuka, Ishikawa Shiho, Ohnishi Hideyuki, Shimatani Mika, Morikawa Yukino, Hayashi Kazusa, Ohnishi Kouhei, Kiba Akinori, Kai Kenji, Hikichi Yasufumi	4. 巻 19
2. 論文標題 Involvement of ralfuranones in the quorum sensing signalling pathway and virulence of <i>Ralstonia</i> <i>solanacearum</i> strain OE1-1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 454 ~ 463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1111/mpp.12537	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hayashi Kazusa, Kai Kenji, Mori Yuka, Ishikawa Shiho, Ujita Yumeto, Ohnishi Kouhei, Kiba Akinori, Hikichi Yasufumi	4. 巻 20
2. 論文標題 Contribution of a lectin, LecM, to the quorum sensing signalling pathway of <i>Ralstonia solanacearum</i> strain OE1-1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 334 ~ 345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1111/mpp.12757	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yang Jun, Kang Yumei, Sakurai Katsutoshi, Ohnishi Kouhei	4. 巻 67
2. 論文標題 Fixation of carbon dioxide by chemoautotrophic bacteria in grassland soil under dark conditions	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acta Agriculturae Scandinavica, Section B ? Soil & Plant Science	6. 最初と最後の頁 362 ~ 371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09064710.2017.1281433	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mehraj Hasan, Sharma Subarna, Ohnishi Kouhei, Shimasaki Kazuhiko,	4. 巻 10
2. 論文標題 RAPD marker assisted evaluation of chloroplast DNA variation in twelve hosta taxa	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Omics	6. 最初と最後の頁 146 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21475/poj.10.03.17.pne506	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sumida Sayuri, Ito Makoto, Galis Ivan, Nakatani Hiroko, Shinya Tomonori, Ohnishi Kouhei, Hikichi Yasufumi, Kiba Akinori	4. 巻 218
2. 論文標題 Phosphoinositide 3-kinase participates in l -methionine sulfoximine-induced cell death via salicylic acid mediated signaling in <i>Nicotiana benthamiana</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 167 ~ 170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jplph.2017.07.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hikichi Yasufumi, Mori Yuka, Ishikawa Shiho, Hayashi Kazusa, Ohnishi Kouhei, Kiba Akinori, Kai Kenji	4. 巻 8
2. 論文標題 Regulation Involved in Colonization of Intercellular Spaces of Host Plants in <i>Ralstonia solanacearum</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2017.00967	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 He Chuan, Ohnishi Kouhei	4. 巻 490
2. 論文標題 Efficient renaturation of inclusion body proteins denatured by SDS	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1250 ~ 1253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Yong, Li Jing, Zhang Weiqi, Wang Rongsheng, Qiu Qiaoqing, Luo Feng, Hikichi Yasufumi, Ohnishi Kouhei, Ding Wei	4. 巻 8
2. 論文標題 Ferulic Acid, But Not All Hydroxycinnamic Acids, Is a Novel T3SS Inducer of <i>Ralstonia solanacearum</i> and Promotes Its Infection Process in Host Plants under Hydroponic Condition	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2017.01595	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 He Chuan, Muramatsu Hisashi, Kato Shin-ichiro, Ohnishi Kouhei	4. 巻 81
2. 論文標題 Characterization of an <i>Alteromonas</i> long-type ulvan lyase involved in the degradation of ulvan extracted from <i>Ulva ohnoi</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2145 ~ 2151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2017.1379352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Weiqi, Li Jing, Tang Yu, Chen Kai, Shi Xiaojun, Ohnishi Kouhei, Zhang Yong	4. 巻 8
2. 論文標題 Involvement of NpdA, a Putative 2-Nitropropane Dioxygenase, in the T3SS Expression and Full Virulence in <i>Ralstonia solanacearum</i> OE1-1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2017.01990	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計12件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Kharel, L., Kiba, A., Hikichi, Y., and Ohnishi, K.
2. 発表標題 Interaction of tobacco chloroplastic proteins with <i>Ralstonia solanacearum</i> type III effector RipAJ
3. 学会等名 平成31年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Lei, N., Chen, L., Kiba, A., Hikichi, Y., and Ohnishi, K.
2. 発表標題 Core type III effectors are necessary for full virulence in <i>Ralstonia solanacearum</i>
3. 学会等名 平成31年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹村知夏, 吉原彩華, 林 一沙, 瀬沼和香奈, 木場章範, 大西浩平, 甲斐建次, 曳地康史
2. 発表標題 青枯病菌のクオラムセンシングに対してクエンチング活性を示す化合物の作用機序
3. 学会等名 平成31年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川本大輝, 林 一沙, 瀬沼和香奈, 木場章範, 大西浩平, 甲斐建次, 曳地康史
2. 発表標題 cbhA遺伝子は青枯病菌OE1-1株の運動能に関わる
3. 学会等名 平成31年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀬沼和香奈, 林 一沙, 登 達也, 木場章範, 大西浩平, 甲斐建次, 津田賢一, 曳地康史
2. 発表標題 <i>Ralstonia solanacearum</i> のクオラムセンシングは複数のシグナル伝達系から構成される
3. 学会等名 平成31年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林慎太郎, 大西浩平
2. 発表標題 海洋性細菌KUL106の有する多糖類のウルバンリアーゼに関する研究
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部第50回記念講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Dahal A, Kharel L, Kiba A, Hikichi Y, Ohnishi K
2. 発表標題 Chloroplastic proteins are the targets for the <i>Ralstonia solanacearum</i> type III effectors
3. 学会等名 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林一沙, 氏田夢斗, 大西 浩平, 木場 章範, 甲斐 建次, 曳地 康史
2. 発表標題 青枯病菌OE1-1株の主要な菌体外多糖ESPIは, クオラムセンシングにより制御される遺伝子発現に寄与する
3. 学会等名 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林一沙, 甲斐 建次, 木場 章範, 大西 浩平, 曳地 康史
2. 発表標題 青枯病菌OE1-1株の主要な菌体外多糖ESPIは, クオラムセンシングにより制御される遺伝子発現に寄与する
3. 学会等名 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Amol Dahal, 木場章範, 曳地康史, 大西浩平
2. 発表標題 Chloroplastic proteins are targets of the RipG effectors of Ralstonia solanacearum
3. 学会等名 第91回日本細菌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 曳地康史, 林一沙, 井上加奈子, 大西浩平, 木場章範, 甲斐建次
2. 発表標題 ラルフラノン化合物は青枯病菌によるマッシュルーム型バイオフィルム形成に関与する
3. 学会等名 第91回日本細菌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林一沙, 甲斐 建次, 大西 浩平, 木場 章範, 曳地 康史
2. 発表標題 二次代謝物質による青枯病菌のクオラムセンシングのフィードバック制御
3. 学会等名 第91回日本細菌学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	木場 章範 (Kiba Akinori) (50343314)	高知大学・教育研究部総合科学系生命環境医学部門・教授 (16401)	
研究分担者	曳地 康史 (Hikichi Yasufumi) (70291507)	高知大学・教育研究部総合科学系生命環境医学部門・教授 (16401)	