

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22310

研究課題名（和文）病原性を特徴づける青枯病菌の細胞間シグナル伝達系ネットワークの解明

研究課題名（英文）Analysis on virulence-identified intercellular signaling networks of *Ralstonia solanacearum*

研究代表者

曳地 康史（Hikichi, Yasufumi）

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：70291507

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：青枯病菌の病原性に不可欠なクオラムセンシング（QS）に関わる細胞間情報伝達系の解明を目的に、まず、QSは、QS依存遺伝子の発現制御を行うLysR型転写制御因子PhcA産生誘導系とPhcA機能化系で構成されることを明らかにした。QSにより産生が誘導される主要な菌体外多糖EPS Iとラルフラノンを経た細胞間情報伝達は、PhcAによるQS依存遺伝子の発現制御を正にフィードバック制御に関わった。さらに、QSにより産生が誘導される外膜に局在するLecMは、QSシグナルmethyl 3-hydroxymyristateの細胞外での安定性に関わり、QSを正にフィードバック制御することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

青枯病は、熱帯から亜寒帯の農業生産に甚大な被害をもたらすと同時に生物テロへの悪用が懸念される植物細菌病であり、青枯病防除技術の開発は緊迫した社会課題である。持続性ある防除効果を示す技術の開発のためには、青枯病菌の病原性を特徴づけるシグナル系の解明は不可欠な研究課題である。本研究の成果から、青枯病防除の標的シグナル系に資するQSシグナル系とともに、QSのフィードバック制御系、さらには、細胞外におけるQSシグナルの化学安定性機構を明らかにした。これらの成果は、青枯病菌の病原性機構解明という学術的意義のみならず、農作物の安定生産をもたらす基盤技術開発につながる社会的意義が高いと判断できる。

研究成果の概要（英文）：The LysR-type transcriptional regulator PhcA regulates expression of quorum sensing (QS)-dependent genes of *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1 dependently its bacterial density. To elucidate extracellular signalling cascade involved in QS, we first showed that the QS signalling cascade is composed of the PhcA induction pathway and PhcA activation pathway. QS-inducible secondary metabolites ralfuranone and major extracellular polysaccharide EPS I were involved in the positive feedback regulation of QS-dependent genes by PhcA. Furthermore, QS-inducible lectin, LecM, which are localized in the outer membrane, was involved in extracellular stability of methyl 3-hydroxymyristate, which was the QS signal, influencing the positive feedback regulation of QS activity.

研究分野：植物病理学

キーワード：青枯病菌 クオラムセンシング 病原性 EPS I ラルフラノン LecM PhcA

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

病害抵抗性遺伝子を有する遺伝的に均一化した品種と殺菌剤を用いた画一的農業の進展に伴い、植物細菌病は、世界の農業生産に甚大な被害をもたらしている。とくに、世界各地の土壤に生息する青枯病菌は、ジャガイモ、トマトなどのナス科植物だけでなく、ピーナッツやバナナなど世界の食を支える 200 種以上の作物に萎凋症状 (青枯病) を引き起こす。青枯病菌のゲノム進化速度が速く、高病原性株が世界各地に蔓延し、宿主範囲を拡大し続けている。青枯病による経済的損失は 1 年あたり数千億円 (国内では数百億円) とされ、バイオテロへの悪用も懸念されている。そのため、世界の農業生産において、青枯病に対して持続性ある卓抜した防除効果を示す技術の開発は緊迫した課題である。ラルフラノンは、青枯病菌のクオラムセンシング (QS) 機能のフィードバック制御に関与することを明らかにした。さらに、トランスクリプトーム解析から、ラルフラノン以外にも、青枯病菌集団の QS 機能のフィードバック制御に関与する、QS により産生が誘導される 2 次代謝物質があることと QS 機能のフィードバック制御を失うと、青枯病菌は病原性を失うことを明らかにした。すなわち、QS 機能のフィードバック制御を行い、青枯病菌細胞集団を寄生性から病原性への機能分化をもたらす、複数のシグナル伝達系がネットワークを形成し、青枯病菌の病原性を特徴づけていると判断した。そこで、持続性ある青枯病防除法の開発のための格好の分子標的である、QS 能のフィードバック制御をもたらす青枯病菌細胞間シグナルネットワークを解明することが必要であると着想した。

### 2. 研究の目的

土壌生息グラム陰性細菌である青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) は、宿主植物に感染直後に、QS を起動し、細胞集団が、寄生性から病原性への機能分化を行う。この機能分化には、QS により産生が誘導される 2 次代謝物質を介した細胞間シグナル伝達による細胞集団の QS 機能のフィードバック (フィードバック) 制御を必要とする。この細胞間シグナル伝達系は、青枯病菌の病原性を特徴づけるものであり、持続性ある青枯病防除のための格好の分子標的である。本研究では、QS 機能のフィードバック制御をもたらす青枯病菌細胞間シグナル伝達系を網羅的に解明し、そのネットワークを明らかにすることを目的とし、以下の研究課題を実施する。

課題 1. QS 機能のフィードバック制御に関わる 2 次代謝物質の同定

課題 2. QS 機能のフィードバック制御に関わる 2 次代謝物質を感知する 2 成分制御系の同定

課題 3. 2 次代謝物質産生系の同定

課題 4. QS 機能のフィードバック制御に関わる青枯病菌細胞間シグナル伝達系の解明

課題 5. QS 機能のフィードバック制御に関わる青枯病菌細胞間シグナル伝達系ネットワークの解明

### 3. 研究の方法

#### 【QS 能測定】

1/4×M63 培地にて 30 °C で一晩振とう培養した青枯病菌菌株の培養液を用いて、青枯病菌株のバイオフィーム形成能、EPS I 産生能および swimming motility を計測し、QS 能とした。

バイオフィーム形成能; PVC microtiter plate の 1 ウェルにつき調製菌液 5 μL を加え、さらに、1/4×M63 培地 95 μL を加え、OD<sub>600</sub> が 0.8 付近になるまで 30 °C で静置培養し、OD<sub>600</sub> を測定した。培養液に 10 % クリスタルバイオレット 25 μL を添加し、15 分間染色した。染色後、ウェル内の液を全て吸い取り、130 μL の滅菌水でリンスした。その後、200 μL の滅菌水で 2 回リンスした。100 % エタノール 100 μL を添加し、OD<sub>550</sub> を測定した。OD<sub>550</sub> 値を OD<sub>600</sub> 値で割った値をバイオフィーム形成能値とした。

EPS I 産生能;  $1.0 \times 10^2$  colony forming unit (CFU) / mL の細胞密度となるように、滅菌水で懸濁した青枯病菌懸濁液 100 μL を 1/4×M63 平板培地に塗布し、30 °C で 2 日間培養した。青枯病菌菌株の単一コロニーを爪楊枝で 1 つ取り、 $1.0 \times 10^5$  CFU/mL の細菌密度になるように General Extract Buffer [0.13 % Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>、 2 % Polyvinylpyrrolidone、 0.02 % NaN<sub>3</sub>、 0.2 % Albumin (Bovine, Protease Free; pH 5.2)、 2 % Tween-20; pH 7.4] に懸濁し、抗-青枯病菌 EPS I 抗体 (Agdia Inc.) を用いて ELISA に供し、OD<sub>650</sub> を測定した。

Swimming motility; OD<sub>600</sub>=0.005 に調製した青枯病菌懸濁液 5 μl を、0.25 % Bacto Agar を含む 1/4×M63 培地に滴下し、30 °C で 48 時間培養し、形成されたハローの直径を計測した。

#### 【2 次代謝物質の同定】

液体 B 培地中で前培養した青枯病菌懸濁液を OD<sub>600</sub>=1.0 に調整し、BG 寒天培地 (25 mL/plate、30 枚) に 50 μL 添加・スプレッドした。30 °C で 24 時間培養後、菌を除かずに寒天ごと細かく刻み、酢酸エチル 1 L に 2 時間浸漬して抽出を行った。抽出液を回収後、もう一度酢酸エチル 1 L で 2 時間浸漬抽出し、合計 2 L の抽出液を得た。抽出液を適量の無水硫酸ナトリウムで 30 分

ほど脱水した。ろ過で無水硫酸ナトリウムを除去後、ロータリーエバポレーターで酢酸エチルを留去した。得られた酢酸エチル抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（10 g、ヘキサン-酢酸エチル、ステップワイズ溶出）によって画分に分けた。それぞれの画分を GC-MS で分析した。画分を確認後、エバポレーターで溶媒を減圧留去し、すぐにアセトニトリル 100  $\mu$ L に溶解し。キラル LC-MS 分析に供した。

#### 【RNA-seq 法に青枯病菌菌株のトランスクリプトーム解析】

1/4×M63 培地で OD<sub>600</sub>= 0.3 まで培養した青枯病菌菌株それぞれの細菌懸濁液から、High Pure RNA Isolation Kit を用いて RNA を抽出した。得られた RNA 溶液に、Recombinant DNase I Buffer を加え、37°C で 1 時間静置した。フェノール/クロロホルム抽出、クロロホルム抽出およびエタノール沈殿を行い、得られた沈殿画分を RNase-Free Water に溶解し、OD<sub>260</sub> を測定し、RNA 濃度 ( $\mu$ g/ $\mu$ l) = 0.04×OD<sub>260</sub>×希釈倍率に従って、RNA 濃度を算出した。RNA サンプルを生物技研 (Sagamihara, Japan) に委託し、Quantus Fluorometer (Promega) と Quanti Fluor RNA system (Promega) を用いて、濃度測定を行った。そして、riboPool (siTOOLs Biotech) を用いて、細菌由来の rRNA を除去した。MGI Easy RNA Directional Library Prep Set (MGI Tech Co., Ltd.) を用いてライブラリーを作製した。Fluorometer と dsDNA 915 HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて、作製されたライブラリー溶液の濃度測定を行った。Fragment Analyzer と dsDNA 915 Reagent Assay Kit (Advanced Analytical Technologies) を用いて、作製されたライブラリーの品質の確認を行った。作製したライブラリーと MGI Easy Circularization, Kit (MGI Tech) を用いて環状化 DNA を作製した。DNB SEQ-G400RS High-throughput Sequencing Kit (MGI Tech) を用いて DNB を作製した。DNBSEQ-G400 を用いて 2×100-bp の条件で、作製した DNB をシーケンシング解析した。得られたリードを Cutadapt v. 1.1 (<http://code.google.com/p/cutadapt/>) と Trimmomatic v. 0.32 (<http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>) を用いてトリミングし、TopHat program v. 2.0.10 (<http://tophat.cbcb.umd.edu/>) を用いて、GMI1000 株のゲノム (AL646052 と AL646053) にマップした。一菌株当たり、3 以上の反復区を設けた。RNA-seq データの統計解析は、"R" を用いて行った。少なくとも OE1-1 株でカウント値が水くなくとも 1 反復で 0 になった遺伝子のデータは除外したデータを calcNormFactors (trimmed mean of M value normalization) を用いて標準化した。発現量の有意な差を示す遺伝子を抽出するための基準として、 $q < 0.05$ かつ  $|\log(FC)| \geq 2$  を用いた。 $q$  値 (false discovery rate) は、Benjamini-Hochberg-corrected  $p$  値から算出した。階層クラスタリング解析には、遺伝子ごとの相対的 count 値 (counts per million) の標準化平均値を、Cluster v. 3.0 software を用いた。一菌株当たり少なくとも 3 反復の平均値を用いた。ヒートマップは、TreeView を用いて作成した。

#### 4 . 研究成果

まず、青枯病菌 OE1-1 株の QS に関わるシグナル伝達系を、QS 能喪失変異株と OE1-1 株のトランスクリプトームを RNA-seq 法にて解析した (図 1)。OE1-1 株では、未同定の細胞外シグナルを、PhcK タンパク質 (PhcK) と PhcS タンパク質 (PhcS) によるヘテロ型センサーヒスチジンカイネース (SK) 複合体が感知した結果、QS に依存した遺伝子 (QS 依存遺伝子) の発現制御を行う LysR 型転写制御因子 PhcA タンパク質 (PhcA) をコードする *phcA* 遺伝子 (*phcA*) 発現が誘導された。さらに、メチルトランスフェラーゼである PhcB タンパク質 (PhcB) により産生し分泌した

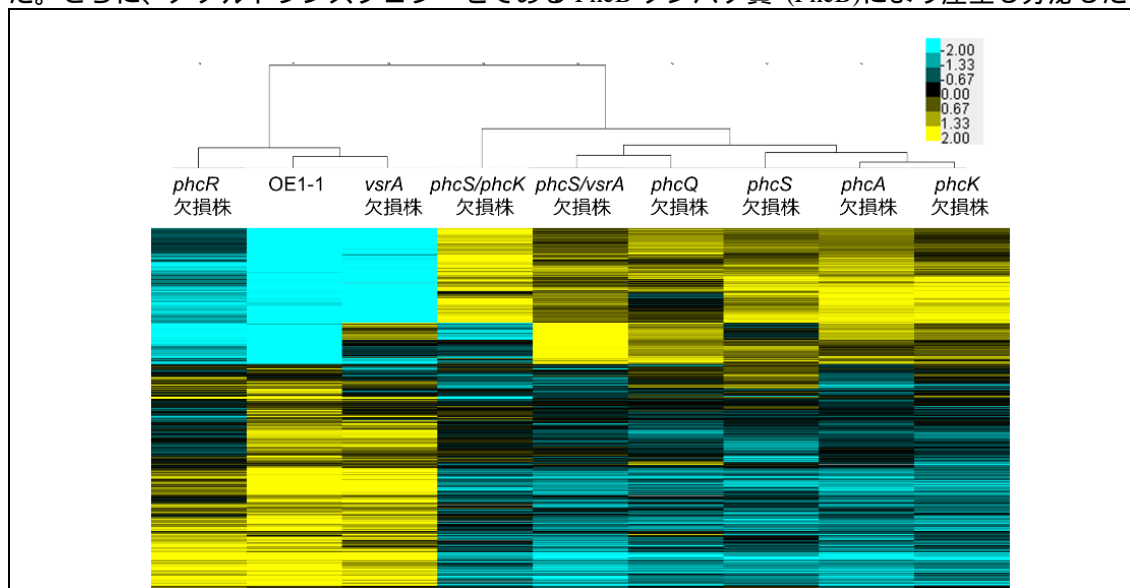


図 1. RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析を基にした QS 関連遺伝子欠損/変異青枯病菌菌株における QS 依存遺伝子の発現量のヒートマップ

QS シグナル methyl 3-hydroxymyristate (3OH-MAME)を、細胞内膜に局在する PhcS と VsrA タンパク質 (VsrA)のヘテロ型 SK 複合体が感知し、DNA 結合領域を有さないレスポンスレギュレーターである PhcR タンパク質 (PhcR) と PhcQ タンパク質 (PhcQ)をリン酸化した。そして、リン酸化された PhcR と PhcQ それぞれが、PhcA の機能化に関わることを明らかにした。すなわち、OE1-1 株の QS は、PhcA 産生誘導系と PhcA 機能化系から成り立っており、QS 依存遺伝子それぞれは、リン酸化 PhcR とリン酸化 PhcQ、リン酸化 PhcR あるいはリン酸化 PhcQ により機能化された PhcA により発現制御されると考えられた (図 2)。

続いて、PhcK と PhcS によるヘテロ型 SK 複合体と、VsrA と PhcS によるヘテロ型 SK 複合体の自己リン酸化部位を特定した。Kinase Phos 2.0 (<http://kinasephos2.mbc.nctu.edu.tw/>) により解析した。PhcS、VsrA および PhcK それぞれの 230 番目のアミノ酸残基、256 番目のアミノ酸残基および 205 番目のアミノ酸残基であるヒスチジンが、自己リン酸化部位であると推定された。そこで、OE1-1 株のこれらヒスチジンそれぞれをグルタミンに置換した変異株 PhcS H230Q、VsrA H256Q および PhcK H205Q を作製した。VsrA H256Q と PhcK H205Q の QS 依存形質 (EPS I 産生能、バイオフィルム形成能および swimming motility)

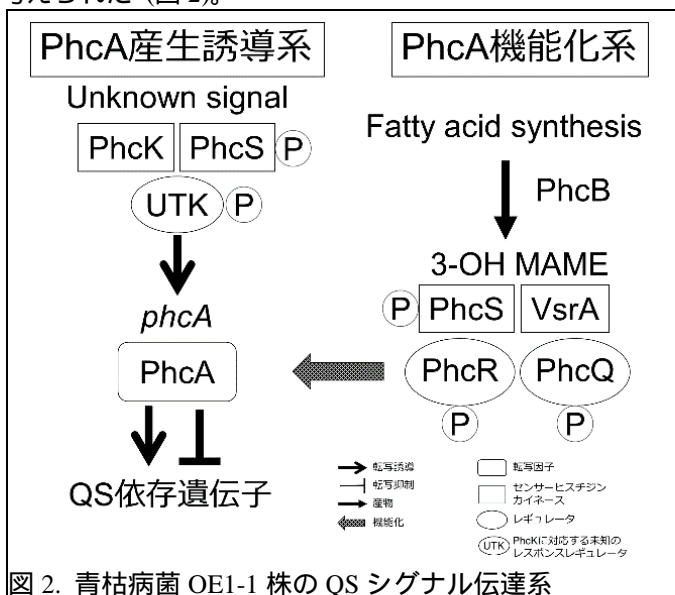


図 2. 青枯病菌 OE1-1 株の QS シグナル伝達系

は、OE1-1 株と同等であったが、PhcS H230Q の QS 依存形質は、*phcS/vsrA* 欠損株、*phcS/phcK* 欠損株および *phcA* 欠損株と同様に、OE1-1 株と比較して、著しく変化した。さらに、これら菌株のトランスクリプトームを RNA-seq 法にて解析し、QS 依存遺伝子の発現パターンを解析したところ、VsrA H256Q と PhcK H205Q では、OE1-1 株と同様のパターンを示し、PhcS H230Q では、*phcS/vsrA* 欠損株、*phcS/phcK* 欠損株および *phcA* 欠損株と類似したパターンを示した (図 3)。すなわち、PhcK と PhcS によるヘテロ型 SK 複合体と、VsrA と PhcS によるヘテロ型 SK 複合体においての自己リン酸化アミノ酸残基は、いずれも PhcS の 230 番目のヒスチジン残基であると考えられた。

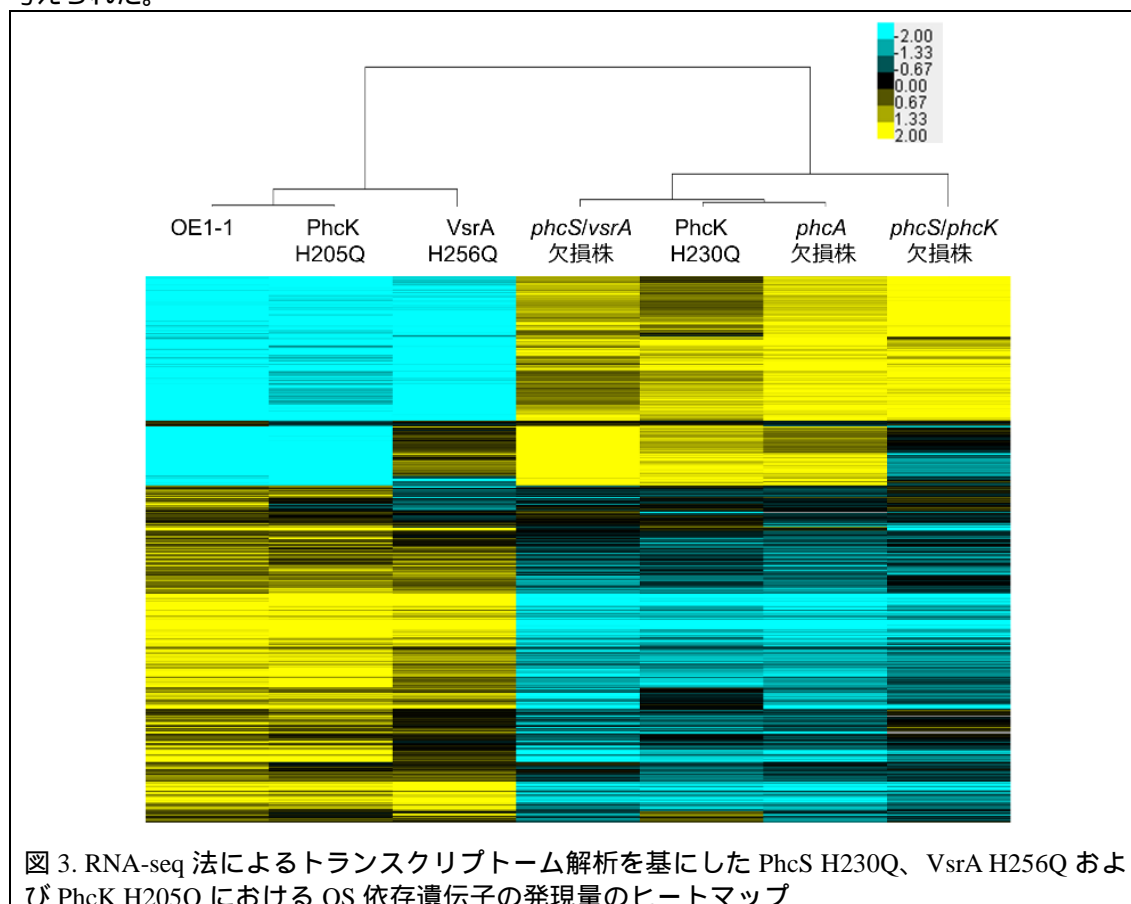


図 3. RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析を基にした PhcS H230Q、VsrA H256Q および PhcK H205Q における QS 依存遺伝子の発現量のヒートマップ

続いて、OE1-1 株と *phcA* 欠損株の RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析とメタボローム解析により、QS により、ラルフラノン化合物とともに、主要な菌体外多糖 EPS I、ラルスタニンおよびアシルホモセリンラクトンである *N*-octanoyl-L-homoserine lactone (C8-HSL) の産生が誘導され、それぞれの産生に関わる *ralA* 遺伝子 (*ralA*) と *ralD* 遺伝子、*epsB* 遺伝子 (*epsB*) を含む *eps* オペロン、*rmyA* 遺伝子 (*rmyA*) と *rysB* 遺伝子および *solI* 遺伝子 (*solI*) の発現が、QS により誘導されることを明らかにした。さらに、OE1-1 株の植物への固着に関わる外膜に局在する糖結合たんぱく質 LecM の産生が QS により誘導されること明らかにした。*rmyA* 欠損株は、*Fusarium* 属糸状菌の厚膜胞子への感染能を喪失するが、QS 依存形質 (EPS I 産生能、バイオフィーム形成能および swimming motility) に変化はなかった。一方、*epsB* 欠損と *lecM* 遺伝子 (*lecM*) 変異は、*ralA* 欠損と *phcA* 欠損と同様に、QS 依存形質の有意な変化をもたらした (図4)。*solI* 欠損は、QS 依存形質の変化をもたらしたが、*ralA* 欠損と *phcA* 欠損に比べると、その変化の程度は低かった。すなわち、QS により産生が誘導される EPS I、LecM および C8-HSL は、QS のフィードバック制御に関わると考えられた。しかし、SolI タンパク質によって合成される C8-HSL を添加した  $\Delta solI$  の QS 依存形質を解析したところ、 $\Delta solI$  のバイオフィーム形成能と EPS I 産生能に C8-HSL の添加による回復は認められなかった。さらに、トランスクリプトーム解析から、*ralA* 欠損株、*lecM* 変異株および *epsB* 欠損株における QS 依存遺伝子の発現パターンが、*phcA* 欠損株と類似していた (図5)。しかし、*solI* 欠損株での QS 依存遺伝子の発現パターンは OE1-1 株と類似しており、一部の遺伝子発現が OE1-1 株と異なった。さらに、C8-HSL を添加した  $\Delta solI$  での QS 依存遺伝子の発現パターンは、OE1-1 株と *solI* 欠損株と大きく異なった。これらの結果から、EPS I とラルフラノンは、青枯病菌の QS のフィードバック制御に関わる細胞間情報伝達シグナルであることが明らかになった。さらに、細胞外に分泌された 2 次代謝産物のメタボローム解析から、LecM は 3-OH MAME の細胞外での物質安定性に関わることで、QS のフィードバック制御に関わることを明らかにした。一方、C8-HSL は細胞間情報伝達シグナルではなく、細胞内情報伝達シグナルとして機能していると推察された。

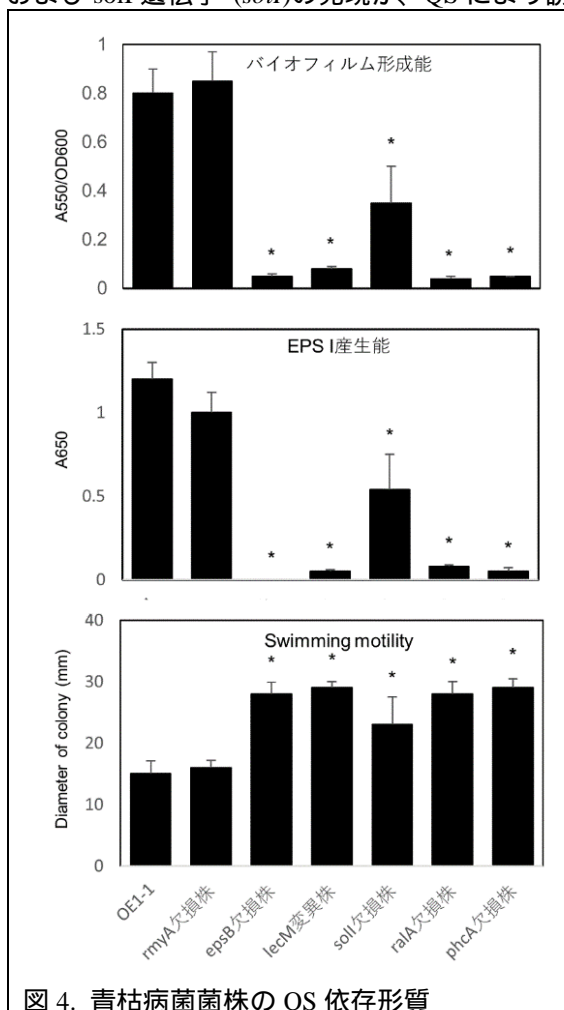


図4. 青枯病菌菌株の QS 依存形質

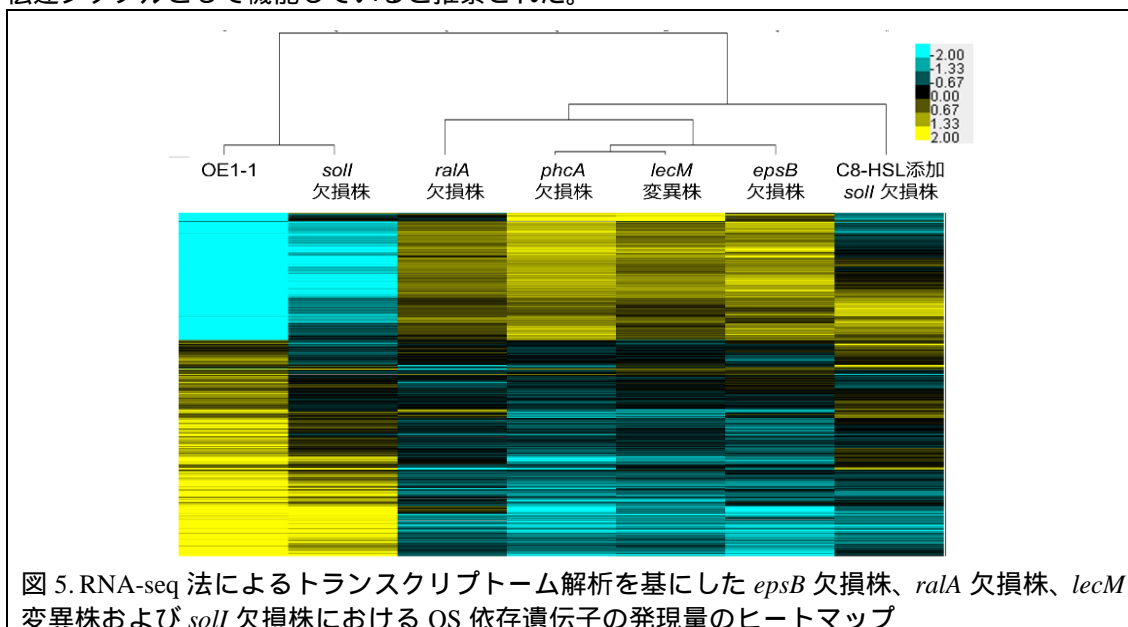


図5. RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析を基にした *epsB* 欠損株、*ralA* 欠損株、*lecM* 変異株および *solI* 欠損株における QS 依存遺伝子の発現量のヒートマップ

## 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 5件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Li Chen, Ni Lei, Akinori Kiba, Yasufumi Hikichi, Kouhei Ohnishi	4. 巻 87
2. 論文標題 Contribution of RipS type III effector family of <i>Ralstonia solanacearum</i> Japanese strain OE1-1 to disease development in eggplant	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of General Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 77-82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10327-020-00977-5	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 Wakana Senuma, Chika Takemura, Kazusa Hayashi, Shiho Ishikawa, Akinori Kiba, Kouhei Ohnishi, Kenji Kai, Yasufumi Hikichi	4. 巻 21
2. 論文標題 The putative sensor histidine kinase PhcK is required for the full expression of phcA encoding the global transcriptional regulator to drive the quorum sensing circuit of <i>Ralstonia solanacearum</i> strain OE1-1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 1591-1605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/MPP.12998	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 Ayaka Yoshihara, Mika Shimatani, Megumi Sakata, Chika Takemura, Wakana Senuma, Yasufumi Hikichi, Kenji Kai	4. 巻 15
2. 論文標題 Quorum Sensing Inhibition Attenuates the Virulence of the Plant Pathogen <i>Ralstonia solanacearum</i> Species Complex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 3050-3059
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acscchembio.0c00752	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 Risa Maenaka, Shuji Tani, Yasufumi Hikichi, Kenji Kai	4. 巻 84
2. 論文標題 Actinomycins inhibit the production of the siderophore pyoverdines in the plant pathogen <i>Pseudomonas cichorii</i> SPC9018	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1975-1985
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2020.1785839	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 Akinori Kiba, Kotoko Fukui, Maki Mitani, Ivan Galis, Yuko Hojo, Tomonori Shinya, Kouhei Ohnishi, Yasufumi Hikichi	4. 巻 37
2. 論文標題 Silencing of phosphoinositide dependent protein kinase orthologs reduces hypersensitive cell death in <i>Nicotiana benthamiana</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 363-367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.20.0511b	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 Akinori Kiba, Masahito Nakano, Miki Hosokawa, Ivan Galis, Hiroko Nakatani, Tomonori Shinya, Kouhei Ohnishi, Yasufumi Hikichi	4. 巻 71
2. 論文標題 Phosphatidylinositol-phospholipase C2 regulates pattern-triggered immunity in <i>Nicotiana benthamiana</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 5027-5038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jxb/eraa233	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 Ni Lei, Li Chen, Akinori Kiba, Yasufumi Hikichi, Yong Zhang, Kouhei Ohnishi	4. 巻 11
2. 論文標題 Super-multiple deletion analysis of type III effectors in <i>Ralstonia solanacearum</i> OE1-1 for full virulence toward host plants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2020.01683	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 該当する

1. 著者名 Jiaman Li, Liangliang Han, Nan Chen, Chao Zhu, Yuwei Gao, Xiaojun Shi, Changzheng Xu, Yasufumi Hikichi, Yong Zhang, Kouhei Ohnishi	4. 巻 33
2. 論文標題 Functional characterization of RsRsgA for ribosome biosynthesis and expression of the type III secretion system in <i>Ralstonia solanacearum</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Plant-Microbe Interactions	6. 最初と最後の頁 972-981
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1094/MPMI-10-19-0294-R	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 該当する

1. 著者名 Yong Zhang, Liangliang Han, Lichun Zhang, Changzheng Xu, Xiaojun Shi, Yasufumi Hikichi, Kouhei Ohnishi	4. 巻 21
2. 論文標題 Expression of <i>Ralstonia solanacearum</i> type III secretion system is dependent on a novel type 4 pili (T4P) assembly protein (TapV) but is T4P independent	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 777-793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mpp.12930	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 該当する

1. 著者名 Ishikawa, Y., Murai, Y., Sakata, M., Mori, S., Shoma Matsuo, S., Senuma, W., Ohnishi, K., Hikichi, Y. and Kai, K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Activation of ralfuranone/ralstonin production by plant sugars functions in the virulence of <i>Ralstonia solanacearum</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1546-1555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00301	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 Zhang, Y., Zhang, W., Han, L., Li, J., Shi, X., Hikichi, Y. and Ohnishi, K.	4. 巻 20
2. 論文標題 Involvement of a PadR regulator PrhP on virulence of <i>Ralstonia solanacearum</i> by controlling detoxification of phenolic acids and type III secretion system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 1477-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mpp.12854	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 該当する

1. 著者名 Hayashi, K., Senuma, W., Kai, K., Kiba, A., Ohnishi, K. and Hikichi, Y	4. 巻 20
2. 論文標題 Major exopolysaccharide, EPS I, is associated with the feedback loop in the quorum sensing of <i>Ralstonia solanacearum</i> strain OE1-1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Plant Patholog	6. 最初と最後の頁 1740-1747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mpp.12870	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 Ujita, Y., Sakata, M., Yoshihara, A., Hikichi, Y., and Kai, K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Signal production and response specificity in the phc quorum sensing systems of <i>Ralstonia solanacearum</i> species complex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 2243-2251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00553	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16件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 竹村知夏・瀬沼和香奈・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 青枯病菌 <i>Ralstonia solanacearum</i> のクオラムセンシングの進化
3. 学会等名 日本細菌学会第94回総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺澤夕貴・竹村知夏・瀬沼和香奈・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 青枯病菌 <i>Ralstonia solanacearum</i> シデロフォア活性の病原性への関与
3. 学会等名 日本細菌学会第94回総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀬沼和香奈・竹村知夏・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 cbhA遺伝子は <i>Ralstonia solanacearum</i> のクオラムセンシングにおける転写制御因子をコードするphcA遺伝子の制御に關与する
3. 学会等名 日本病理学会令和3年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹村知夏・瀬沼和香奈・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 Ralstonia solanacearum OE1-1株によるマッシュルーム型バイオフィルム形成におけるラルフラノンJの機能
3. 学会等名 日本病理学会令和3年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺澤夕貴・竹村知夏・瀬沼和香奈・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 Ralstonia solanacearum OE1-1株の病原性へのシデロフォア活性の関与
3. 学会等名 日本病理学会令和3年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹村知夏・瀬沼和香奈・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 青枯病菌Ralstonia solanacearumのクオラムセンシングのシグナル伝達系の平衡進化
3. 学会等名 日本植物病理学会令和2年度関西西部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 瀬沼和香奈・井上加奈子・木場章範・大西浩平・甲斐健次・曳地康史
2. 発表標題 グルコースは青枯病菌OE1-1株のswimming motilityの抑制に関与する
3. 学会等名 日本植物病理学会令和2年度関西西部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Wakana Senuma, Chika Takemura, Kazusa Hayashi, Shiho Ishikawa, Akinori Kiba, Kouhei Ohnishi, Kenji Kai, Yasufumi Hikichi
2. 発表標題 The putative sensor histidine kinase PhcK is required for the full expression of phcA encoding the global transcriptional regulator to drive the quorum sensing circuit of <i>Ralstonia solanacearum</i> strain OE1-1
3. 学会等名 Japan-US Early Career Plant-Microbe Researcher Showcase (国際学会)
4. 発表年 2020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2つのシグナル伝達系から構成される
3. 学会等名 日本細菌学会第92回総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹村知夏・林一沙・瀬沼和香奈・吉原彩華・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とその作用機序
3. 学会等名 日本細菌学会第92回総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀬沼和香奈・竹村知夏・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OE1-1株のphcBSRQオペロンのクオラムセンシングへの関与と平衡選択
3. 学会等名 日本植物病理学会令和元年度関西西部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南彩花・瀬沼和香奈・木場章範・大西浩平・甲斐建次・曳地康
2. 発表標題 青枯病菌OE1-1株のシデロフォア活性のクオラムセンシングによる制御
3. 学会等名 日本植物病理学会令和元年度関西支部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀬沼和香奈・竹村知夏・木場章範・大西浩平・甲斐建次・曳地康史
2. 発表標題 <i>Ralstonia solanacearum</i> OE1-1株の運動能のクオラムセンシングによる抑制機構
3. 学会等名 日本細菌学会第93回総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹村知夏・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 <i>Ralstonia solanacearum</i> におけるphcBSRQオペロンのクオラムセンシングに関する平衡選択
3. 学会等名 日本細菌学会第93回総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 曳地 康史・甲斐 建次・瀬沼 和香奈・竹村 知夏・木場 章範・大西 浩平
2. 発表標題 クオラムセンシングは、植物病原細菌 <i>Ralstonia solanacearum</i> の病原力を精巧に制御する
3. 学会等名 日本細菌学会第93回総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 瀬沼和香奈・井上加奈子・川本大輝・木場章範・大西浩平・甲斐建次・曳地康史
2. 発表標題 グルコースはRalstonia solanacearum OE1-1 株のべん毛生成の抑制に関する
3. 学会等名 日本植物病理学会令和2年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 眞山滋志・土佐幸雄編	4. 発行年 2020年
2. 出版社 文英堂出版	5. 総ページ数 347
3. 書名 植物病理学第2版	

〔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	甲斐 建次  (Kai Kenji)  (40508404)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授   (24403)	
研究分担者	大西 浩平  (Ohnishi Kouhei)  (50211800)	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	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)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------