

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04458

研究課題名(和文) 菌体密度感知機構によるT3SS遺伝子発現制御機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of quorum sensing-mediated regulation of T3SS gene expression

研究代表者

一瀬 勇規 (ICHINOSE, Yuki)

岡山大学・環境生命科学研究所・教授

研究者番号：50213004

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,040,000円

研究成果の概要(和文)：タバコ野火病菌(Pta)の菌体密度感知機構転写因子(PsyR)の組換えタンパク質はアシルホモセリンラクトン(AHL)不在下でAHL合成酵素遺伝子プロモーターに結合し、AHL存在下で転写を増高させる正の転写制御因子であることを明らかにした。また、PsyRはタイプIII分泌機構の転写制御遺伝子であるhrpL遺伝子プロモーターに存在する非完全逆方向反復配列に結合することを明らかにした。Pta及びAHLを生産しないトマト斑葉細菌病菌では、高菌体密度でnoncoding small RNAであるrsmX, rsmYが高発現し、Gac/Rsmシグナル経路の重要性が推察された。

研究成果の概要(英文)：The mechanisms of acyl-homoserine lactone (AHL)-mediated quorum sensing (QS) in *Pseudomonas syringae* was investigated. Recombinant PsyR of *P. syringae* pv. *tabaci* 6605 (Pta6605) bound to the promoter of AHL synthase gene, *psyl* without AHL, and activated its transcription with AHL. PsyR also bound to the imperfect inverted repeat located in the promoter of *hrpL*, a gene for transcriptional activator of hrp type III secretion system genes. Pta6605 and *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 highly expressed noncoding small regulatory RNAs, *rsmZ* and *rsmY* at high cell density conditions. Because PtoDC3000 doesn't produce AHL, importance of Gac/Rsm signaling pathway in QS was suggested.

研究分野：植物病原細菌学

キーワード：菌体密度感知機構 成制御系 rsmX アシルホモセリンラクトン PsyR 転写制御 タイプIII分泌システム Hrp Gac2

## 1. 研究開始当初の背景

*P. syringae* はその感染過程の異なるステージで特有の病原力を発揮する。本研究代表者は、これまでにタバコ野火病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (*Pta*) 6605 を主たるモデル病原細菌として、*Pta*6605 のべん毛運動能と菌体密度感知(QS)機構との関連や、QS 機構と *hrp* Type III secretion System (T3SS) 関連遺伝子の発現制御機構の関連について以下の知見を集積していた。(1) べん毛遺伝子クラスターのフラジェリン遺伝子 *fliC* とフラジェリン糖転移酵素遺伝子 *fgt2* の間に存在する遺伝子 *orf3* は本菌の QS 分子であるアシルホモセリンラクトン(AHL)の前駆体合成酵素遺伝子であることを発見した。

(2) *Pta*6605 のべん毛運動能欠損変異株である  $\Delta fliC$  や  $\Delta motABCD$  の AHL 合成能は欠損、あるいは著しく低下していることを発見した。(3) *Pta*6605 の AHL 結合性転写因子 PsyR の欠損変異株  $\Delta psyR$  では野生株より T3SS 関連遺伝子の発現が増高していることを見出した。また、AHL 合成酵素遺伝子欠損変異株  $\Delta psyI$  に対し、外生の AHL を添加すると T3SS 関連遺伝子の発現が増高することを見出した。

(4) *P. syringae* pv. *syringae* (*Psy*) B728a の  $\Delta psyR$  変異株では *Pta*6605 とは逆に、 $\Delta psyR$  の方が野生株に比べ T3SS 関連遺伝子の発現が低下した。

(5) *Pta*6605 の TetR family 転写因子 AefR の変異株  $\Delta aefR$  変異株では AHL は合成されず、軟寒天培地における swarming 運動能が低下し、病原力も低下した。

(6) *Psy*B728a の  $\Delta aefR$  変異株は軟寒天培地における swarming 運動能が更新し、インゲンに対する病原力が増大したことが Quinones らのグループにより報告された。

(7) *Pta*6605 の QS システムの標的遺伝子として MarR 転写因子遺伝子と Rieske (2Fe-2S) クラスター含有タンパク質遺伝子を含むオペロンを特定した。これらの遺伝子産物は細胞壁の強化を介した環境ストレス耐性に貢献することを明らかにした。

以上のことより、PsyR には *P. syringae* に共通した機能と、*Pta*6605 と *Psy*B728a で異なる機能が存在すると推察された。本マイクロアレイの結果から、*Pta*6605 の PsyR と *Psy*B728a の PsyR は、T3SS 関連遺伝子の発現に対し、異なる影響を及ぼしていることが推察された。

## 2. 研究の目的

ほとんどの植物病原細菌の病原性には、菌体密度感知(QS)機構による遺伝子発現調節やタイプ III 分泌機構(T3SS)によるエフェクターの注入が必要である。研究代表者は *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (*Pta*6605) の QS 機構や T3SS の欠損変異株では病原性が低下・欠損することを明らかにしてきた。本菌の菌体密度感知分子はアシルホモセリンラ

クトン(AHL)であり、AHL は AHL 結合性転写因子 PsyR と結合して、病原力遺伝子の転写を制御していると言われている。ところが *P. syringae* における AHL 合成の制御機構、QS 転写因子である PsyR の標的遺伝子の同定、PsyR の DNA への結合様式、PsyR による転写の制御機構、さらには PsyR・AHL を介した QS が *P. syringae* の各種菌株で共通しているのかも明らかにされていない。本研究では以上の点を明らかにし、さらに QS 機構による T3SS 遺伝子発現の制御機構の解明を目指した。

## 3. 研究の方法

### (1) トランスポゾンによる AHL 合成能復活株の探索

$\Delta fliC$  変異株では AHL が蓄積しない。その原因を探るためトランスポゾンの挿入により AHL 蓄積が回復した菌株を探索した。トランスポゾンには pBSL118 と pHSG396 を *EcoRI* 部位で連結させた pBSLC1 を用いた。本プラスミドをトランスポゾンベクターとして利用することにより、トランスポゾン挿入株から挿入部位を含む領域をプラスミドとして回収し、トランスポゾン挿入部位の塩基配列を解読した。

### (2) 遺伝子欠損変異株の作出

遺伝子の欠損変異株を作出するために、まず当該遺伝子領域と約 0.6 kb 以上の上流、下流域を含む領域を PCR 増幅し、プラスミドにクローニングした。次に Inverse PCR とセルフライゲーションにより欠損遺伝子を含むプラスミドを得た。このプラスミドの挿入 DNA 断片(欠損させた遺伝子の上流と下流の配列)を pK18mobSacB にサブクローニングし、接合と 2 回の相同組換えにより目的の遺伝子欠損変異株を作出した。

### (3) 遺伝子高発現株の作出

*mexT* の高発現株を pDSK519 を用いて作出した。pDSK519 は広範囲のグラム陰性細菌で自立増殖するプラスミドベクターである。*mexT* を *lac* プロモーターの下流に導入することにより *mexT* ならびに MexT により正に制御される *mexEF-oprN* の高発現株を得た。空の pDSK519 導入株をネガティブコントロールとした。

### (4) 組換えタンパク質の生産

*Pta*6605 と *Psy*B728a の菌体密度感知システムの転写因子 PsyR を pET16b および pMAL-c5X-His を用いた融合タンパク質として発現させた。pET16b を用いた場合には N 末に His タグが、pMAL-c5X-His を用いた場合には N 末にマルトース結合タンパク質(MBP)が、C-末に His タグが付加される。当初、pET16b を用いて PsyR 組換えタンパク質を生産させていたが、多くの PsyR 組換えタンパク質が不溶性となり、精製困難であった。

そこで pMAL-c5X-His を用いて生産させたと  
ころ、PsyR 組換えタンパク質は可溶性となり、  
アミロースレジンを充填させたカラムを用  
いて精製に成功した。

#### (5) EMSA 法

DIG 標識させた DNA 断片と PsyR 組換えタ  
ンパク質を用いた結合試験を Electrophoretic  
mobility shift assay (EMSA)法で解析した。コ  
ンペティターとして無標識の各種 DNA 断片  
を供使した。DNA と PsyR 組換えタンパク質  
は混合後、20 分間氷上に静置させ、5%ポリ  
アクリルアミドゲルで電気泳動した。泳動後  
のゲル中の DNA は Hybond-N+ にプロッティ  
ングし、アルカリホスファターゼを結合させ  
た抗 DIG 抗体と化学発光試薬である CSPD を  
反応させ、ChemiDoc Touch を用いて化学発光  
を検出した。

#### (6) レポーター遺伝子を用いた遺伝子発現 量の解析

解析対象のプロモーターは *lacZYA* レポ  
ーター遺伝子と連結させ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ  
活性を測定することによりその強度を測定  
した。レポータープラスミドには *EcoRV* で切  
断したトランスポゾンベクター pBSL118 と  
*HincII* 切断した汎用プラスミド pHSG398 を  
連結したプラスミドの *BamHI* と *EcoRI* 部位に  
pARO-*lacZYA* 由来の *lacZYA* を挿入すること  
によって作出したプラスミド pBSLC2-*lacZYA*  
に解析対象のプロモーターを導入することで  
構築した。pBSLC2-*lacZYA* の *BamHI* と *SpeI*  
部位 (*lacZYA* の上流域) にプロモーターを順  
方向に挿入して構築した。このプラスミドは  
接合により解析したい菌株のゲノムにラン  
ダムに挿入し、レポーター株とした。 $\beta$ -ガラ  
クトシダーゼ活性は Miller (1992)の方法によ  
り測定した。

#### (7) RT-PCR 法

細菌の全 RNA は Jena Bioscience の Total  
RNA Purification Kit を用い、cDNA は ReverTra  
Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover  
(Toyobo)を用いて合成した。0.5 $\mu$ g の RNA を  
用いて半定量 RT-PCR を行い、PCR 産物はア  
ガロース電気泳動で解析した。

#### (8) AHL 蓄積量の解析

AHL の検出にはバイオセンター菌株であ  
る *Chromobacterium violaceum* CV026 を用い  
た。*Pseudomonas syringae* のコロニーの上、  
あるいは終夜液体培養した *P. syringae* に同量  
の酢酸エチルを加えて抽出した AHL をスポ  
ットした薄層の上に、終夜液体培養した *C.*  
*violaceum* と 0.6%軟寒天 LB 培地を混合重層  
し、30 で一晩静置培養した。AHL が存在す  
る場合はその量に応じて紫色の色素である  
ピオラセインを検出することができる。

#### (1) *P. syringae* における AHL 合成の制御 機構

*AfliC* 変異株では AHL が蓄積されない。そ  
の原因を探るために、トランスポゾンの挿入  
により AHL 蓄積が回復した株のスクリー  
ニングを行った。その結果、約 14,000 のトラン  
スポゾン挿入株から 11 の AHL 蓄積能回復株  
を得た。トランスポゾン挿入位置の解析によ  
り、トランスポゾンは多剤排出ポンプ遺伝子  
である *mexEF-oprN*、並びにその正の転写制  
御因子である *MexT* の遺伝子に挿入されてい  
た。*AfliC* 変異株に新たに *mexF* あるいは *mexT*  
の変異を導入すると AHL の蓄積は回復した。  
同様に AHL 蓄積能を失活した他のべん毛運  
動能変異株である  $\Delta$ *motCD* 変異株に *mexF* あ  
るいは *mexT* の変異を導入すると AHL 蓄積能  
は回復した。さらに、AHL を生産しない  $\Delta$ *gacA*  
変異株、 $\Delta$ *aeiR* 変異株に *mexF* 変異を導入し  
た場合においても AHL の蓄積は回復した。こ  
れらのことから *mexEF-oprN* の高発現が AHL  
の蓄積を阻害していると考え、*mexT* 高発現に  
よる AHL 蓄積への影響を解析した。その結  
果、野生株における *mexT* の高発現は  
*mexEF-oprN* の高発現を導き、その結果、AHL  
は蓄積しなくなった。この時、*psyl* 遺伝子は  
野生株と変わらず発現しており、*mexT* 高発現  
株において AHL が蓄積されなかったのは、  
*MexEF-OprN* により AHL が蓄積する前に排  
出されてしまうためであると結論した。

#### (2) QS 転写因子である PsyR の標的遺伝子 の同定 (T3SS 遺伝子発現の制御機構)

大腸菌を使って *Pta6605* と *PsyB728a* の組換  
え PsyR 転写因子を大量に生産し、 $\Delta$ *psyR* 変異  
株の遺伝子発現プロファイルが野生株の遺  
伝子発現プロファイルと大きく異なる遺伝  
子のプロモーターに対する EMSA 解析を行  
った。PsyR の標的候補遺伝子は、QS 遺伝子  
である *psyl*, *psyR*、多剤排出ポンプ遺伝子  
である *mexE*, *mexA*, *mexE* の正の転写因子遺伝子  
である *mexT*、T3SS 遺伝子である *hrpL*, *hrpK1*,  
*hrpR* である。その結果、*Pta6605* では *psyl* と  
*hrpL* のプロモーターに結合し、他の標的候補  
遺伝子プロモーターとは結合しなかった。一  
方、*PsyB728a* では *psyl*, *hrpL* の他、*psyR*, *mexE*  
でもシフトバンドが形成されたが、*PsyB728a*  
ではさらなる検証が必要である。*Pta6605* の  
*psyl*, *hrpL* プロモーターに対しては結合配列  
の絞り込みを行った。その結果、*psyl* では翻  
訳開始点より-57~-76 の位置に *V. fischeri* の  
*luxI* プロモーターに見出されている *lux box* に  
騒動な配列が存在しており、この配列に結合  
することが明らかになった。一方、*hrpL* では  
翻訳開始点から-60~-90 に存在する配列に結  
合することが明らかとなった。*hrpL* プロモ  
ーターの PsyR 結合配列は *lux box* に相同性は示  
さなかったが、*lux box* と同様に不完全な逆方  
向反復配列であった。この 2 次構造が結合特  
異性に重要であると思われた。

### (3) PsyR の DNA 結合様式の解析

PsyR の *psyl*, *hrpL* プロモーターへの結合に及ぼす AHL の影響を解析した。様々な濃度の *N*-(3-oxo-hexanoyl)-L-homoserine lactone (OHHL) と *N*-hexanoyl-L-homoserine lactone (HHL) を組合わせて EMSA の反応溶液に加えたが、シフトバンドの形成に影響は及ぼさなかった。このことから PsyR は AHL 非存在下で標的プロモーターに結合し、その結合に AHL は影響しないと結論づけた。しかしながら、組換え PsyR には N-末端側に MBP が融合しているため、PsyR の N-末端側に存在する AHL 結合ドメインが機能しなかった可能性もあるため、Factor Xa で PsyR と MBP を切り離してから EMSA 解析を行って確認する予定である。

### (4) PsyR による転写の制御機構

*psyl* プロモーターの転写活性を -ガラクトシダーゼをコードする *lacZYA* に連結し、解析した。*Pta6605* の野生株に *psyl::lacZYA* をトランスポゾンで導入し、菌体密度に応じた -ガラクトシダーゼ活性を測定した。その結果、-ガラクトシダーゼ活性は菌体密度の上昇と共に増高した。また、 $\Delta$ *psyl* 変異株に *psyl::lacZYA* を導入し、外から与えた AHL の -ガラクトシダーゼ活性に及ぼす影響を解析した。その結果、 $\Delta$ *psyl* 変異株では *psyl* プロモーターの活性は低いが、外から与える AHL の濃度に依存して -ガラクトシダーゼ活性は増高した。すなわち *psyl* の転写の活性化には AHL を必要とすることが明らかとなった。

### (5) *P. syringae* の各種菌株における *psyl*, *psyR* 遺伝子の解析と AHL 合成能

AHL は *P. syringae* における QS 分子として知られているが、AHL の蓄積が解析されているのは *Pta6605*, *PsyB728a* など限られている。そこで研究室に保存している *P. syringae* の各 pathovar, 分離株について AHL の蓄積を *C. violaceum* を用いた生物検定で解析するとともに、ゲノム情報が解析済みの *P. syringae* について *psyl*, *psyR* の遺伝子構造を解析した。その結果、上記 2 菌株を含む 15 菌株について AHL の蓄積を調べたところ、上記 2 菌株に加えて *P. syringae* pv. *tabaci* 11528 のみが AHL を生産し、他の pv. *tomato* DC3000 (*PtoDC3000*), pv. *phaseolicola* 1448A など 12 菌株では AHL を生産していなかった。また、遺伝子情報から *PtoDC3000* や pv. *maculicola* などでは *psyl* の本来の翻訳停止コドンが塩基置換により読み枠が伸長し、その結果、*psyR* の読み枠とオーバーラップしていることが判明した。また、pv. *phaseolicola* 1448A では *psyR* の N-末端側にストップコドンがあり、本来の長さの PsyR は合成されないこと、pv. *glycinea* に至っては *psyR* の読み枠の中に 8 箇所ものストップコドンがあることが明らかになった。これらのことより、*P. syringae* では一部の pathovar では AHL 合成能を維持し

ているものの、ほとんどの pathovar では QS 遺伝子である *psyl*, *psyR* に変異が生じていて退化進化していると考えられた。これらの菌株では何故 AHL を生産しなくなったのか、植物相互作用における共進化の観点から興味深い課題である。

### (6) 菌体密度に応じて発現変動する遺伝子の解析

AHL を生産する *Pta66605* と AHL を生産しない *PtoDC3000* について、菌体密度に応じた遺伝子発現変動が起きているかマイクロアレイ解析を行った。RNA はそれぞれの菌で低菌体密度の RNA は OD<sub>600</sub> が 0.01 の細菌から、高菌体密度の RNA は OD<sub>600</sub> が 1.0 の細菌から精製した。マイクロアレイの結果、*PtoDC3000* では高菌体密度で 311 遺伝子の発現が 2 倍以上誘導され、105 遺伝子の発現が 1/2 以下に低下した。このことから *PtoDC3000* は AHL を生産していなくとも QS 機構はあると考えられた。特に発現増高が顕著だったのは *rsmX1*~*rsmX5* と *rsmY* という非コード small regulatory RNA であった。*Pta6605* では *rsmX1*~*rsmX5* と *rsmY* はアノテートされていなかったためマイクロアレイのデータとしてはなかったが、ゲノム中にはそれぞれのオルソログは存在していた。*PtoDC3000*, *Pta6605* の高菌体密度、低菌体密度由来の RNA を調製し、ノーザンブロット解析で確かに *rsmX2*, *rsmY* の発現が高菌体密度で誘導されることを確認した。*Pta6605* ではこれまでに様々な遺伝子欠損変異株を作出している。QS 変異株である  $\Delta$ *psyl*,  $\Delta$ *psyR* における *rsmX2*, *rsmY* の発現は野生株と同様に菌体密度の上昇に伴って強く誘導された。しかしながら、 $\Delta$ *gacA* では *rsmX2*, *rsmY* の発現は見られなかった。このことは *rsmX*, *Y* の発現は *psyl*, *R* に影響を受けないことを示している。少なくとも *PtoDC3000* など AHL を生産しない菌には未知の QS 機構の存在が示唆された。

本研究課題では AHL を介した QS による T3SS 関連遺伝子の発現制御機構を明らかにしようとしたが、AHL による QS システムより未知の QS システムの重要性が高いことが判明した。*rsmX*, *rsmY* は RsmA などの翻訳阻害因子をキャプチャーすることにより RsmA による翻訳阻害を解除すると考えられている。T3SS 遺伝子も *rsmX*, *rsmY* により翻訳阻害解除を受ける遺伝子なのかもしれない。今後、新しい展開が見込まれる。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

- ① Sawada, T., Eguchi, M., Asaki, S., Kashiwagi, R., Shimomura, K., Taguchi, F., Matsui, H., Yamamoto, M., Noutoshi, Y., Toyoda K.,

and Ichinose, Y. (2018) MexEF-OprN multidrug efflux pump transporter negatively control N-acyl-homoserine lactone accumulation in *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605. Mol. Genet. Genomics In press. 査読有

- ② Ichinose Y., Sawada T, Matsui H., Yamamoto M, Toyoda K, Noutoshi Y, and Taguchi F., (2016) Motility-mediated regulation of virulence in *Pseudomonas syringae*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 95: 50-54. 査読有
- ③ 一瀬勇規・澤田貴博・高田基弘・山本 悟・藤山友里・中津有紀子・田阪洋昌・下村洪祐・田口富美子・松井英讓・山本幹博・能年義輝・豊田和弘 (2016) *Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構と多剤排出ポンプの病原性における役割. 植物細菌病談話会論文集 (第 27 号) p.77-88. 日本植物病理学会 査読無

[学会発表] (計 26 件)

田阪洋昌・山本 悟・松井英讓・山本幹博・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規. *Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構の解析 (3) PsyR とアシルホモセリンラクトンによる遺伝子発現制御機構. 2018. 3. 25-27. 平成 30 年度日本植物病理学会大会 神戸

中津有紀子・松井英讓・山本幹博・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規. *Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構の解析 (4) 菌体密度に応じた遺伝子発現制御. 2018. 3. 25-27. 平成 30 年度日本植物病理学会大会 神戸

Tumewu, S. A. Kashiwagi, R., Matsui, H., Yamamoto, M., Noutoshi, Y., Toyoda, K., and Ichinose, Y. Study on the chemotaxis system and identification of GABA chemoreceptor of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605. 2018. 3. 25-27. 平成 30 年度日本植物病理学会大会 神戸

丸山望・清川達則・石賀貴子・石賀康博・尾花望・一瀬勇規・野村暢彦・別役重之. 植物葉上における *Pseudomonas* 属細菌の感染挙動の可視化解析. 2017. 9. 22-23, 日本植物病理学会関東部会 横浜

一瀬勇規・松井英讓・石賀康博・山本幹博・能年義輝・豊田和弘. *Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構の解析 (2) 2017. 9. 19-20. 平成 29 年度日本植物病理学会関西部会 大阪

Ichinose, Y., Matsui, H., Yamamoto, M., Noutoshi, Y. and Toyoda, K. Quorum sensing and MexEF<sub>OprN</sub> multidrug efflux transporter in *Pseudomonas syringae*. 2017. 9. 13-15. 2017 Asian Conference on Plant Pathology, Jeju, Korea

Tumewu Angelia Stephany, Hajime Yamada, Yuka Sugihara, Ryota Kashiwagi, Hidenori Matsui, Mikihiro Yamamoto, Yoshiteru Noutoshi, Kazuhiro Toyoda and Yuki Ichinose. Study on the chemotaxis system and its role in virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605. 2017. 9.

13-15. 2017 Asian Conference on Plant Pathology, Jeju, Korea

丸山望, 石賀貴子・石賀康博・別役重之・尾花望・一瀬勇規・野村暢彦. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* の運動性と病原性との関連に関する解析. 2017. 9. 8-10. 日本植物学会第 81 回大会. 野田

Tumewu Angelia Stephany, Yamada Hajime, Sugihara Yuka, Matsui Hidenori, Yamamoto Mikihiro, Noutoshi Yoshiteru, Toyoda Kazuhiro, Ichinose Yuki, Chemotaxis of *Pseudomonas syringae* pv. *taabci* toward several compounds that exist in plant. 2017. 4. 26-28. 平成 29 年度日本植物病理学会大会 盛岡

丸山望・清川達則・石賀貴子・石賀康博・別役重之・尾花望・一瀬勇規・野村暢彦. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 病原性関連遺伝子の網羅的解析と感染機構の可視化. 2017. 3. 19-21. 第 90 回日本細菌学会総会 仙台

丸山望・清川達則・石賀貴子・石賀康博・別役重之・尾花望・一瀬勇規・野村暢彦. *Pseudomonas amygdali* pv. *tabaci* 病原性関連遺伝子の網羅的解析と感染機構の可視化. 2017. 3. 16-18. 第 58 回日本植物生理学会年会 鹿児島

一瀬勇規・澤田貴博・高田基弘・山本 悟・藤山友里・中津有紀子・田阪洋昌・下村洪祐・田口富美子・松井英讓・山本幹博・能年義輝・豊田和弘. *Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構と多剤排出ポンプの病原性における役割. 2016. 10. 24-25. 第 27 回植物細菌病談話会 京都

石賀康博・石賀貴子・一瀬勇規. 植物毒素コロナチンを介した罹病性の分子メカニズム. 2016. 10. 24-25. 第 27 回植物細菌病談話会 京都

丸山望・清川達則・石賀貴子・石賀康博・別役重之・尾花望・一瀬勇規・野村暢彦. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 病原性関連遺伝子の網羅的解析と感染機構の可視化. 2016. 10. 22-25. 微生物生態学会 横須賀

澤田貴博・山本幹博・松井英讓・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605 における AHL 合成制御機構並びに MexEF<sub>OprN</sub> 多剤排出ポンプの病原性における役割の解析. 平成 28 年度日本植物病理学会関西部会 静岡 2016. 9. 29-30.

山本 悟・藤山友里・高田基弘・松井英讓・山本幹博・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規. *Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構の解析 (1) 平成 28 年度日本植物病理学会関西部会 静岡 2016. 9. 29-30.

Yasuhiro Ishiga and Yuki Ichinose. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* oxidative stress-regulated transcription factors play an important role for virulence in tomato and *Arabidopsis*. 平成 28 年度日本植物病理学会感染生理談話会 神戸 2016. 8. 10-12.

丸山望・清川達則・石賀貴子・石賀康博・尾花望・別役重之・一瀬勇規・野村暢彦. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 病原性関連遺伝子の網羅的解析と感染機構の可視化. 平成 28 年度日本植

物病理学会感染生理談話会 神戸 2016. 8. 10-12.

清川達則, 丸山 望, 石賀貴子, 尾花 望, 石賀康博, 別役重之, 一瀬勇規, 野村暢彦 COCRM法を用いた植物葉表面および付着細菌のリアルタイムイメージング系の構築. 平成 28 年度日本植物病理学会感染生理談話会 神戸 2016. 8. 10-12.

石賀貴子, 石賀康博, 秋田智美, 清川達則, 丸山望, 尾花望, 別役重之, 一瀬勇規, 野村暢彦. 植物病原細菌一細胞可視化系を用いた集団微生物学的観点からの病原性の理解と解明. 平成 28 年度日本植物病理学会感染生理談話会 神戸 2016.8. 10-12.

- 21 山本 悟・藤山友里・高田基弘・松井英讓・山本幹博・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規.

*Pseudomonas syringae* の菌体密度感知機構の解析. 平成 28 年度日本植物病理学会感染生理談話会 神戸 2016. 8. 10-12.

- 22 小倉敬右・田口富美子・山本幹博・松井英讓・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規.

*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a の病原力制御因子 Vfr の標的遺伝子のクロマチン免疫沈降法による探索(2) 平成 28 年度日本植物病理学会大会 岡山 2016. 3. 21-23.

- 23 Yuki ICHINOSE, Motility-mediated regulation of virulence in *Pseudomonas syringae*, 11<sup>th</sup> US-Japan Scientific Seminar “Molecular Contact Points in Host-Pathogen Co-evolution”, Takamatsu, 2015. 10. 25-29.

- 24 澤田貴博・山本幹博・松井英讓・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* における AHL 合成制御機構の解析. 平成 27 年度日本植物病理学会関西部会 徳島 2015. 9. 29-30.

- 25 澤田貴博・山本幹博・松井英讓・能年義輝・豊田和弘・一瀬勇規. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* における AHL 合成制御機構の解析. 平成 27 年度日本植物病理学会感染生理談話会 松山 2015. 8. 24-26.

- 26 Yuki CHINOSE & Fumiko TAGUCHI, Global regulation of virulence-related genes in *Pseudomonas syringae* pv. *tabaco*. 2015. 6. 2-5. 9<sup>th</sup> International Conference on *Pseudomonas syringae* and Related Pathogens, Málaga, Spain

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等  
該当なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

一瀬 勇規 (ICHINOSE, Yuki)

岡山大学・環境生命科学研究科・教授

研究者番号: 50213004

(2) 研究分担者  
該当なし

(3) 連携研究者  
該当なし

(4) 研究協力者  
該当なし