

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分
平成30年3月30日現在

植物病原菌の感染戦略における宿主認識と形態形成の分子基盤

Molecular basis of infection strategy in plant pathogenic fungi: host recognition and infection structure development

課題番号：15H05780

久保 康之 (KUBO YASUYUKI)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授



研究の概要

本研究は病原糸状菌の感染戦略における宿主認識と感染器官の形態形成の分子機構研究をウリ類炭疽病菌を用いて行い、病原糸状菌の感染適応戦略を分子レベルで理解することを目的としている。病原菌の侵入前の宿主表層環境の認識と侵入器官形成の制御機構と侵入後の宿主-病原菌間インターフェイスを介した形態形成および感染制御機構の解明を行う。

研究分野：植物病理学

キーワード：植物病原糸状菌

1. 研究開始当初の背景

植物病原糸状菌である炭疽病菌は70以上の種から構成され、多様な農作物に感染し、深刻な被害を与えている。また、炭疽病菌は病原糸状菌の感染適応戦略理解のモデル系としての特質を備えている。炭疽病菌は、植物への感染過程で感染器官の分化を行い、宿主との相互作用を経て感染を成立させる。これまで、ウリ類炭疽病菌の病原性、侵入器官の形態形成に関与する遺伝子の同定と機能解析を進め、シグナル伝達、細胞極性制御、メラニン合成系、ペルオキシソーム機能、細胞壁構成制御、エフェクター機能などに関わる遺伝子が植物への感染に重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本研究は病原糸状菌の感染戦略における宿主認識と感染器官の形態形成の分子機構研究をウリ類炭疽病菌を用いて行い、病原糸状菌の感染適応戦略を分子レベルで理解することを目的としている。とくに、本菌のゲノム情報をベースにした解析と分子細胞学的解析を組み合わせ、統括的な研究を進めることにより、植物病原糸状菌の植物への感染適応戦略の分子モデルを構築し、創薬の新規有効ターゲットになる病原菌の代謝経路の解明を進め、病害防除における基盤的な成果を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

炭疽病菌をモデルとして、病原糸状菌は植物への感染時に植物表層を認識し、表層環境

に応じたダイナミックな応答を行い、感染器官の形態分化を行うこと、また、侵入後の病原菌と植物細胞とのインターフェイスを介して、エフェクター機能に基づく宿主免疫抑制および活物寄生関係を構築し、感染定着することを明らかにしてきた。

本研究はその独創的発見を起点とし、現象理解を深めることにより病害防除の基盤的技術開発を確立することをミッションとして位置付けている。その内容は、感染過程のフェーズに基づき2つに大別できる。第一に、病原菌の侵入前の段階における「植物表層環境の複合認識と侵入器官形成を制御するシグナル受容・伝達系」の存在であり、第二に、侵入後の「宿主-病原菌間インターフェイスを介した形態形成および感染制御機構」の存在である。本研究ではこの二つのフェーズに立脚して現象理解を進める。

4. これまでの成果

【宿主表層環境の複合認識による侵入器官形成の制御機構】

宿主表層シグナル分子の受容に関わる細胞内シグナル伝達経路としてMOR経路に関わる新規の転写因子を順遺伝学および逆遺伝学的手法で見出し、その機能解析を行った。マイクロアレイ解析により、Zn(II)₂Cys₆型転写因子遺伝子 *CoMTF4* がMOR経路下流で機能することを見出した。*CoMtf4* は宿主葉上での付着器形成特異的に胞子核に局在し、*CoMtf4* の植物シグナル応答性を確認した。また、その局在は *in vitro* 条件においてもクチンモノマーを添

加することにより再現された。さらに、変異株のスクリーニングによって、新規の転写制御因子 *PSC1* を同定することに成功した。*psc1 Δ* は *Comt4 Δ* と極めて類似した形質を示し、*CoMTF4* との制御関係について検討を進めている。また、宿主表層の物理的シグナル受容系因子として植物シグナル受容に関わる MOR 経路の *Copag1 Δ* を親株として、変異株のスクリーニングを行い、候補株の選抜に成功した。

【宿主-病原菌間インターフェイスを介した形態形成および感染制御機構】

1) インターフェイスへのエフェクター分泌機構の解明

出芽酵母においてエキソサイトシスを制御している低分子量 G タンパク質である *RHO3*, *CDC42* について、ウリ類炭疽病菌のホモログ遺伝子を同定し、その標的破壊解析をおこなった結果、両因子が本菌のエフェクター分泌に関わることを見出した。また、ウリ類炭疽病菌の複数菌株において、エフェクターが集積するインターフェイスの存在を確認し、さらにキュウリに加えてメロンとの相互作用時に本インターフェイスが形成されることを明らかにした。

2) インターフェイスへのターゲティングに必要なエフェクター遺伝子転写制御機構殺傷ステージで発現するエフェクター NLP1 を恒常的にウリ類炭疽病菌において発現させた場合、宿主感染が阻害されることを発見し、エフェクター遺伝子の転写制御の重要性を明確に示した。エフェクター NLP1 の誤発現による感染阻害は、NLP1 のカルボキシル末端部分をウリ科作物が認識し、強度抵抗性を誘導することにより生じていた。つまりエフェクターが不適切に発現した場合、植物抵抗性を誘導するリスクがあり、それゆえエフェクター遺伝子の厳密な転写制御が存在すると考えられた。

3) 侵入後の活物寄生性と死物寄生性のダイナミックシフトの制御機構

アブラナ科炭疽病菌とシロイヌナズナを用いて、ストレス応答制御因子 *WHI2* 制御系の準活物寄生性への関与を解析した。*whi2* 変異株を用いた炭疽病菌感染時におけるシロイヌナズナのマイクロアレイ解析により、*whi2* 変異株接種時において、植物小型分泌ペプチドホルモン遺伝子ファミリーに属する遺伝子の顕著な上方制御を確認した。さらに、アブラナ科炭疽病菌の活物寄生段階に関与する特異的エフェクターの発現が *whi2* 変異株顕著に下方制御されており、これらが関与する準活物寄生性成立モデルの考察を進めている。

5. 今後の計画

【宿主表層環境の複合認識による侵入器形成の制御機構】

・植物特異的シグナル受容に関する MOR 上流/下流因子のおよび植物非特異的な物理的シグナル受容系因子の同定と機能解析が着実に進んでおり、両シグナル系の相互関係について、明らかにしていく。

【宿主-病原菌間インターフェイスを介した形態形成および感染制御機構】

・エフェクターの宿主移行に関する研究を実施し、インターフェイスの生物学的意義に迫るとともに、インターフェイスへのエフェクターターゲティングに関わる遺伝子転写制御の分子基盤を明らかにしていく。

・アブラナ科炭疽病菌とシロイヌナズナを用いた DNA マイクロアレイ実験により、準活物寄生の成立に関わる病原菌側、植物側の主要実行因子候補の同定に成功した。それら因子の機能解析を進める。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 1) Azmi, N., Ogawa, S., Ikeda, K., Kitakura, S., Inoue, Y., Narusaka, Y., Shirasu, K., Kaido, M., Mise, K., and **Takano, Y.** (2018) Inappropriate expression of an NLP effector in *Colletotrichum orbiculare* impairs infection on Cucurbitaceae cultivars via plant recognition of the C-terminal region. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 31:101-111.
- 2) Kodama, S., Ishizuka, J., Miyashita, I., Ishii, T., **Nishiuchi, T.**, Miyoshi, H., and **Kubo, Y.** (2017) The morphogenesis related NDR kinase pathway of *Colletotrichum orbiculare* is required for translating plant surface signals into infection-related morphogenesis and pathogenesis. *PLoS Pathog.* 13 : e1006189.
- 3) Harata, K., **Nishiuchi, T.**, and **Kubo, Y.** (2016) *Colletotrichum orbiculare* *WHI2*, a yeast stress-response regulator homolog, controls the biotrophic stage of hemibiotrophic infection through TOR signaling. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 29: 468-483.
- 4) Irieda, H., Ogawa, S., and **Takano, Y.** (2016) Focal effector accumulation in a biotrophic interface at the primary invasion sites of *Colletotrichum orbiculare* in multiple susceptible plants. *Plant Signal. Behav.* e1137407.

ホームページ等

<http://blog.livedoor.jp/beachan/>