

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18380031

研究課題名 (和文) 三型分泌機構「非」依存の植物病原細菌の研究

研究課題名 (英文) Studies on plant pathogenic bacteria not depending on the Type III secretion system (T3SS)

研究代表者

瀧川 雄一 (TAKIKAWA YUICHI)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：90163344

研究分野：植物病理学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：植物病原細菌、III型分泌機構、*hrp* 遺伝子、*Pseudomonas*、*Pantoea*

1. 研究計画の概要

三型分泌機構 (Type III secretion system; T3SS) は動物植物の病原細菌に広く保存され、病原因子を宿主細胞に注入するための分泌装置として病原性の根幹をなしている。しかし植物病原細菌の全てが T3SS 遺伝子を有しているわけではない。本研究では、既知の II 型や IV 型とも異なったあらたな病原性誘導機構の発見を目指して以下の様な研究を行った。

(1) *Pseudomonas viridiflava* と *P. fuscovaginae* の *hrp* 遺伝子構造の解析と過敏感反応(HR)誘導因子の探索：*P. viridiflava* において T3SS である *hrp* 遺伝子の欠失の状況と機能との関連、*P. fuscovaginae* における病原性関与遺伝子の探索、機能解析を行う。

(2) 新たな T3SS 非依存植物病原細菌の探索：上記2種類以外の植物病原細菌で HR 誘導能力や強い病原性があるものの T3SS 機構に依存しない病原性システムを有する可能性のある病原体を探索する。

(3) *Pantoea ananatis* における病原性発現因子の解明：探索の結果新たに見つかった *P. ananatis* について病原性に関与する遺伝子を明らかにするとともに、その生態や発病機作を明らかにし、また植物体での反応過程を解明する。

2. 研究の進捗状況

(1) *P. viridiflava* については、*hrp* 遺伝子の構造が系統によって大きく異なることを明らかにしたが、欠失と考えられた部位は変形した *hrp* 遺伝子が入っており、基本的には従来型の T3SS 依存型の病原性発現機構に則っていることを明らかにした。よって本研究

の主要なターゲットにはなり得ない事がわかった。一方、*P. fuscovaginae* については *hrp* 遺伝子の検出はできず、培養上清に HR 誘導能力を認めた。その主体はペクチン分解酵素と推定されたが、主な遺伝子である *pel* は一部の菌株にのみ存在し、残りの株には従来に無い新しいタイプの分解酵素遺伝子があることが推定された。

(2) T3SS に依存しない新たなタイプの病原体として、*Pantoea ananatis* と *Rhizobacter dauci* が浮上してきた。いずれも当研究室で近年解析を行っているが、T3SS は保有していないと推定されている。*P. ananatis* はメロン果実内腐敗病を引き起こすグループとイネやネギに病原性のあるグループ、その他のグループの3通りがあり、それぞれ別の発病様態を示す事を明らかにした。

(3) *P. ananatis* の病原性発現では、メロン病原群はいずれも *iaaM*、*iaaH* および *etz* といった植物ホルモン合成遺伝子を保有しており、その有無と病原性が一致する事からこれらが主要病原因子である可能性を示した。イネ・ネギ病原群ではタバコにゆっくりと HR 様の反応を示し、なおかつ *hrp* 遺伝子は検出されないため、新たな発病機構のターゲットとして最重要であると判断している。

3. 現在までの達成度

(2)、(3) については当初の計画を上回って進展している。

理由：当初計画になかったあらたな病原細菌が T3SS 非依存と推定され、その病原遺伝子の解析に進む事が出来た。その中で菌の系統分化やそれに対応した病原性遺伝子の分布の分化などもあきらかになってきた。

(1) についてはほぼ計画通りに進行した。
理由: *P. fuscovaginae*において従来型のペクチン分解酵素遺伝子 *pel* とそれ以外の新規酵素が関与していることを明らかに出来た。
*P. viridiflava*については *hrp* 遺伝子の多様性と病原性の関係は低いものであることが明らかとなったが、当初期待した様な新規な機構の解明には至らなかった。

4. 今後の研究の推進方策

特に、*P. ananatis* を中心課題に据えて以下の様な研究を推進している。

(1) 本菌のイネ・ネギ病原群が有するタバコへの HR 様反応の誘導について、従来の T3SS による HR と同じ現象が起きているのか、タバコで発現している遺伝子解析を行って明らかにする。

(2) タバコでの HR 様反応を基準に、*P. ananatis* においてトランスポゾンタギングを行い、反応を誘起している原因遺伝子を直接つかまえることをめざす。

(3) 既にえられている *iaaM*, *iaaH*, *etz* 遺伝子について、ノックアウト変異株を作成し、病原性への関与について直接的に証明する。

5. 代表的な研究成果

(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2件)

1) Kido, K., Adachi, R., Hasegawa, M., Yano, K., Hikichi, Y., Takeuchi, S., Atsuchi, T. and Takikawa, Y. (2008) Internal fruit rot of netted melon caused by *Pantoea ananatis* (= *Erwinia ananas*) in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* 74:302-312. 査読有

2) Kawarazaki, H., Goto, M., Kato, K., Kijima, T., Kawada, H., Yamamoto, K. and Takikawa, Y. (2009) Identification of the Bacterium Isolated from Galls Formed on Carrot and Weeds. *J. Gen. Plant. Pathol.* 75: 235-240. 査読有

[学会発表] (計5件)

1) Takikawa, Y., Kotani, A. and Kameyama, Y. Diversity of *Pseudomonas viridiflava* based on *hrp* gene cluster. 第11回国際植物病原細菌学会 2006年7月13日 英国エジンバラ市

2) 木戸一孝・安達理恵・竹内繁治・曳地康史・瀧川雄一 メロン果実腐敗症から分離された *Pantoea ananatis* (= *Erwinia ananas*) の病原性 平成19年度日本植物病理学会 平成19年3月29日 栃木県宇

都宮市

3) 河原崎秀志・後藤正夫・加藤孝太郎・木嶋利男・川田宏史・山本圭祐・瀧川雄一 ニンジンおよび自生植物から分離されたニンジンこぶ病菌の同定および分類学的位置について. 平成20年度日本植物病理学会 平成20年4月27日 島根県松江市.

4) 木戸一孝・小林真樹・松本大雪・長谷川優・瀧川雄一 メロン果実腐敗病(仮称)の病原菌である *Pantoea ananatis* (= *Erwinia ananas*) の宿主範囲と遺伝的特異性. 平成20年度日本植物病理学会 平成20年4月27日 島根県松江市.

5) Kido, K., Atsuchi, T. and Takikawa, Y. Pathogenicity of *Pantoea ananatis* causing internal fruit rot of netted melon. 第9回国際植物病理学会 2008年8月26日 イタリア トリノ市

上記のうち、1) と 5) は国際学会

[その他]

ホームページ

<http://www.agr.shizuoka.ac.jp/b/plantpath/index.html>