

て確認した後、以下の研究での遺伝子クローニングに利用した。

第2章 Acr1による分生子柄形成制御と付着器成熟制御

いもち病菌の多くの分生子形態変異株では、付着器形成能も同時に低下することが観察されている。これまでに、いもち病菌の分生子形態形成に関する変異株や遺伝子が得られているが、それらの遺伝子の機能や制御機構はほとんど明らかになっていない。そこで、いもち病菌の分生子形成様式を制御するメカニズムを解明することを目的とし、分生子形成様式が異常になった *cac* 変異株を取得し解析を行った。*cac* 変異株では分生子形成様式に異常があり、先に形成された分生子の先端から次の胞子が形成され、その結果、連鎖した分生子が形成されていた。*cac* の変異箇所を解析した結果、*Aspergillus nidulans* の分生子柄形成様式修飾因子 *MedA* 遺伝子に55%の相同性をもつ *ACRI* 遺伝子に LINE 型トランスポゾンが挿入されていた。*ACRI* 破壊株 (*acr1*) の付着器形成能は野生型に比較すると約37%まで低下しており、さらにイネへの感染率は約8%まで減少していた。また、*acr1* のいずれの欠損形質も cAMP の添加により回復しなかった。そこで、*Acr1* により制御を受けている遺伝子を解析する目的で、*acr1* と *Guy11* の分生子から回収した mRNA を用いてサブトラクションライブラリーを作製した。マクロアレイ解析、定量的 RT-PCR の結果、*acr1* では *S. cerevisiae* の *Pcl1* サイクリンホモログ (*Mpcl1*) およびグリコーゲンホスリラーゼ (*Mgph1*) の発現が低下していることが示された。*A. nidulans* では *Pcl1* ホモログは分生子柄形成制御に関与していることから、*acr1* 変異株分生子においても *Mpcl1* の発現が低下したため分生子柄の形成様式が異常になり連鎖した分生子が形成されたと考えられた。*acr1* 変異株では付着器内のグリコーゲン分解活性が野生型の付着器と比較し非常に低下していた。これらの結果から、*acr1* 変異株では *Mgph1* の発現の低下に伴い、グリコーゲンからのグリセロール生合成量が減少した結果、イネへの侵入に十分なグリセロール膨圧が付着器内につくられず、感染率が低下したことが示唆された。

第3章 ヘテロ3量体 G タンパク質 β サブユニット ($G\beta$) による付着器形成と胞子形成の制御

細胞は外界の変化に対して迅速に反応する必要がある、その機構の1つに3量体 G タンパク質 ($G\alpha, G\beta, G\gamma$ サブユニット) を介した外環境シグナルの細胞内への伝達が挙げられる。*S. cerevisiae* のフェロモンシグナル伝達系では $G\beta\gamma$ サブユニットを介して *Fus/Kss1* MAP キナーゼシグナル伝達経路が活性化される。いもち病菌の付着器形成は *Fus3/Kss1* に対し相同性を持つ MAP キナーゼである *Pmk1* により制御されることが知られている。いもち病菌では3つの $G\alpha$ サブユニットが存在するが、いずれの欠損株も *Pmk1* 欠損株と異なる形質を示す。そこで $G\beta$ サブユニットが付着器形成誘導シグナルを *Pmk1* 経路に伝達している可能性について検討した。また、*Cryphonectria parasitica*、*A. nidulans*、*N. crassa* では $G\beta$ サブユニットが胞子形成に関係することが知られており、いもち病菌でも $G\beta$ サブユニットが胞子形成に関与している可能性が高いと考えられる。そこで、いもち病菌ゲノム中に1コピー存在する3量体 G タンパク質 β サブユニット遺伝子 (*MGB1*) をクローニングし、遺伝子破壊株 (*mgbl*) を作成した。*mgbl* では野生型と比べ、気中菌糸を多く形成するもののコロニーの生育はやや遅れた。また、分生子柄形成数が減少した結果、胞子形成量が10%まで減少した。*mgbl* では分生子の発芽開始の遅延、疎水面上で付着器形成能の欠損、感染能力の欠損が観察された。*mgbl* は cAMP 添加により異常形態の付着器を形成するが、異常形態の付着器からの植物への侵入は見られなかった。しかしながら、培地に cAMP を添加すると、胞子形成量が野生型の約40%まで回復した。分生子内 cAMP 濃度は *mgbl* では野生型の約40%まで減少するが、*MGB1* を複数コピー導入した株では、逆に、付着器形成が親水表面上でみられただけでなく、分生子内 cAMP 濃度が野生型よりも60%増加した。

これらの結果は、Mgb1 が付着器形成開始時の表面認識と cAMP シグナルの活性化や、植物への感染を制御しているだけでなく、cAMP シグナルの制御を介して孢子形成にも影響を与えていることを示している。

総合考察

本研究では、イネいもち病菌において Acr1 が分生子柄形成様式を制御すると同時に、付着器内のグリセロールの蓄積（付着器の成熟）にも関与していることが示された。また、Mgb1 が付着器形成や感染に関するシグナル伝達系を上流で制御しているだけでなく、孢子形成にも cAMP シグナルを介して関与していることも明らかにした。これまでに知られているいもち病菌の分生子形成や付着器形成に関する遺伝子変異株では、分生子形成と付着器形成の双方に変異がみられるものが多い。また最近のマイクロアレイ解析の結果から、分生子形成時と付着器形成時に複数の遺伝子が重複して発現していることが示されている。本研究で得られた結果もこれらの知見とよく一致している。Mgb1 や Acr1 はいもち病菌において付着器形成と孢子形成のそれぞれのシグナル伝達系の交差する点に位置しており、そのため、それぞれの欠損変異株では付着器形成と孢子形成に同時に変化が見られたと考えられる。本研究は Mgb1 と Acr1 による孢子形成・付着器形成の制御メカニズムは、イネいもち病菌における孢子形成と付着器形成シグナル伝達経路が相互に制御していることを示すものである。