

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 西村 麻里江

---

イネいもち病菌 (*Magnaporthe grisea*) はイネの重要病原菌であるが、近年はモデル病原糸状菌として、遺伝・分子・ゲノムレベルでの解析が進められている。イネいもち病菌の感染には、イネに付着したいもち病菌の孢子が発芽して付着面の疎水性を認識し、感染特異的器官である付着器形成を誘導することが必要である。成熟した付着器では外壁のメラニン化と内部のグリセロール蓄積により膨圧が形成される。付着器内膨圧を利用して付着器からイネに侵入したイネいもち病菌はイネ組織内で伸展し、病斑から分生子柄を形成してその先端に孢子を着生する。付着器形成には cAMP が 2 次メッセンジャーとして働くこと、付着器の成熟と感染には MAP キナーゼ Pmk1 が関与することが知られているが、その制御系は明らかになっていない。本論文はイネいもち病の感染に重要な役割を果たす孢子形成、付着器形成の制御機構について述べたものである。

(1) BAC ベクター (Bacterial Artificial Chromosome) は安定して 100 kb 以上の DNA 断片を挿入することができるため、マッピングが必要なゲノムサイズの大きな生物のライブラリー作製に利用される。本研究では、イネいもち病菌ゲノム DNA を用いて平均インサートサイズ約 120 kb、約 18 ゲノムをカバーする BAC ライブラリーを作製し、本研究での遺伝子クローニングに利用した。

(2) 孢子形成様式が変異したイネいもち病菌変異株を単離し解析を行ったところ、この変異株ではコウジ菌 *Aspergillus nidulans* の分生子柄形成様式修飾因子 *MEDA* 遺伝子のホモログである *ACR1* 遺伝子に LINE 型トランスポゾンが挿入されていた。*ACR1* 破壊株 (*acr1*) では孢子形成様式の異常以外に付着器形成能とイネへの感染率の低下がみられた。*acr1* と野生型株の孢子から cDNA サブトラクションライブラリーを作製し、孢子形成期に *acr1* で発現が変化する遺伝子をマクロアレイ、定量的 RT-PCR で確認したところ、*acr1* では分裂酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の Pcl1 サイクリンホモログ (Mpcl1) およびグリコーゲンホスホリラーゼ (Mgph1) の発現が低下していることが示唆された。いもち病菌の *acr1* 変異株においては Mpcl1 の発現量の減少により分生子柄の形成様式が異常になったと考えられた。*acr1* 変異株において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とから、*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、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。

(3) 真核生物では、ヘテロ 3 量体 G タンパク質により cAMP シグナル伝達系、MAP キナーゼカスケードなどが制御されている。既知のイネいもち病菌変異株の形質から、イネいもち病菌において 3 量体 G タンパク質βサブユニット (*MGB1*) が付着器形成に関するシグナル伝達系を制御すると予想し、研究を行った。いもち病菌ゲノム中に 1 コピー存在する *MGB1* をクローニングし、*MGB1* 破壊株 (*mgb1*) を作製したところ、*mgb1* では胞子の発芽の遅延、誘導条件下での付着器形成能の欠損、感染能の欠損が観察された。*mgb1* は cAMP 添加により異常形態の付着器を形成するが、感染能は回復しなかった。*mgb1* では分生子柄形成数が減少し、胞子形成率が約 10% まで減少するが、培地に cAMP を添加すると、胞子形成率が野生型の約 40% まで回復した。分生子内 cAMP 濃度は *mgb1* 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、付着器形成が親水表面上でみられると同時に、胞子内 cAMP 濃度が野生型よりも 60% 増加した。これらの結果により、*Mgb1* が cAMP シグナルを介して付着器形成や胞子形成を制御すること、植物への感染に必要であることが示された。

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制御、*Mgb1* が付着器形成誘導や感染の制御の核となる遺伝子であることが示された。また、*Acr1* や *Mgb1* が胞子形成・付着器形成を同時に制御する機構を解析することにより、イネいもち病菌での胞子形成と付着器形成の制御経路が相互に交差していることを初めて明らかにした。本研究で得られた知見はイネいもち病菌における新たな形態形成制御モデルを提唱するものであり、今後のいもち病に対する防除戦略に基礎情報を提供するものである。よって審査委員一同は、本論文が、博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。