

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 森 拓馬

植物糸状菌病は植物病害数全体の 8 割以上を占める。なかでもイネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*) はイネの最重要病原体である。イネいもち病菌の感染過程の侵入・増殖に関わる遺伝子の発現制御やシグナル伝達機構には未解明な部分が多く、またこれまで明らかにされた知見、研究も付着器形成等の限られたステージに集中している。

植物病原糸状菌の植物組織への侵入、植物組織内での増殖（組織内伸展及び栄養獲得）の際には細胞壁分解酵素の関与する例が多く報告されているが、イネいもち病菌でこれらの過程に関与する細胞壁分解酵素は未だ同定されていない。多くの植物病原糸状菌では植物細胞壁の構成成分であるペクチンを分解する酵素をもち、その中でも特にポリガラクトナーゼ (PG) が病原性に関わる例が多く報告されている。本研究は、イネいもち病菌 PG とイネへの病原性との関係を解析し、その過程でこの遺伝子が予想に反して胞子の発芽に関与することを明らかにしたものである。以下、研究の内容を記す。

1. イネいもち病菌のペクチン分解酵素の発現解析

本研究では炭素結合触媒酵素データベース CAZy 及び 2005 年に全ゲノム配列が解読されたイネいもち病菌 70-15 株のデータベースを用いて、6 つのペクチン分解酵素を同定した。これら遺伝子のペクチン分解と病原性への関与を検証したところ、MGG_08938 と MGG_08752 がペクチン分解に関わっている可能性が示唆された。特に MGG_08938 は休眠胞子でも遺伝子発現していたことから植物への侵入・増殖以外の過程でも何らかの機能をもつと考えられ詳細な解析を行った。

2. endoPG ホモログ MGG_08938 のクローニング

イネいもち病菌 P2-R 株より MGG_08938 を PCR 増幅し、クローニングした。塩基配列を決定し、解析したところ MGG_08938 は通常の PG と比べると、配列の特徴が異なり、ポリガラクトナーゼの機能は有さないと推測された。MGG_08938 の配列のシグナル配列予測を行ったところ、細胞壁或いは細胞外に局在することが示された。

3. endoPG ホモログ MGG_08938 破壊株の解析

次いで MGG_08938 の機能解析を行うため、P2-R 株を用いて相同組み換えによる MGG_08938 遺伝子破壊株の作出を行った。この遺伝子破壊株をイネに接種したところ、野生型株と比較してイネの葉、穂いずれの病原性にも顕著な差がみられなかったため、イネに対する病原性への関与は小さいと考えられた。また栄養菌糸の成長において野生型株との顕著な相違はみられなかったため、栄養成長への関与も小さいと考えられた。MGG_08938 は休眠孢子期に発現していることが示されたため、発芽や付着器形成を誘導する条件下で孢子の形態を詳細に観察した。その結果野生型株では発芽阻害のおこるはずの 1×10^6 個/ml の高密度条件の孢子においても、破壊株では高い発芽率であることが明らかとなった。一方発芽阻害が起こらない 3×10^4 個/ml 以下の低密度条件下では野生型株と破壊株との間に発芽率の差は認められなかった。また孢子からの栄養菌糸の発芽率に野生型株と破壊株との間に差はみられなかった。以上から MGG_08938 は密度依存的に発芽管の形成を抑制していることが示され、この遺伝子を *MDG1* (*Magnaporthe oryzae* density-dependent germination regulator) と命名した。

3. *MDG1* と自己発芽阻害物質の関係

多くの糸状菌の孢子で自己発芽阻害に物質が関与することが示唆されている。そこで *MDG1* と自己発芽阻害物質の関わりについて検討を行った。まず高密度条件で 6 時間インキュベーションした孢子懸濁液の上清を回収し、この上清中に発芽阻害物質が含まれているかを検証した。その結果孢子懸濁液上清中に自己発芽阻害物質が存在することが確認された。*MDG1* 破壊株の孢子懸濁液上清も同様に野生株孢子の発芽を阻害したことから、*MDG1* 破壊株も発芽阻害物質を生産し、*MDG1* が発芽阻害物質の生産ではなく受容かそれ以降のシグナル経路に関わっていることが判明した。

以上を要するに、本研究によりイネいもち病菌の孢子発芽過程に関与する遺伝子 *MDG1* が単離され、孢子高密度条件下での発芽阻害機構における役割が示された。植物病原菌類において孢子発芽過程は分子生物学的解析がほとんど行われておらず、その一端が解明される意義は大きい。また、イネいもち病菌の防除につながることも期待される。従って、これらの成果は学術上また応用上きわめて価値が高い。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。