

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	小川 泰生
論文題目	Studies on host specificity of the cucurbit anthracnose pathogen <i>Colletotrichum orbiculare</i> via comparative analyses with closely related pathogens (近縁菌との比較解析によるウリ類炭疽病菌の宿主特異性に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>植物病原糸状菌は様々な作物に感染し農業被害を引き起こしているが、その一方、個々の種は系統的に限られた植物種にしか感染できないことが多い。このことは宿主特異性と呼ばれ、その背景には植物の免疫機構と、病原糸状菌側のそれを乗り越える戦略の相互作用があると考えられる。しかし、多くの場合、その成立機構の分子基盤は不明である。ウリ類炭疽病菌 (<i>Colletotrichum orbiculare</i>) はキュウリ、スイカ、メロンなどのウリ科作物に炭疽病と呼ばれる病害を引き起こす植物病原糸状菌である。本研究では、植物病原糸状菌の宿主特異性成立メカニズムを明らかにすることを目的として、ウリ類炭疽病菌とその近縁種の間で見られる宿主特異性の違いに注目し、その分子的背景の解明を目指した。</p> <p>植物病原糸状菌は、宿主植物の免疫反応を抑制するために、エフェクターと総称される一群の分泌性タンパク質を植物に送り込むと考えられている。第1章では、まずウリ類炭疽病菌と、本菌とは異なる宿主特異性を示す近縁種の感染過程におけるエフェクター分泌様式を比較した。蛍光タンパクで標識したエフェクターを発現する形質転換株を用いた観察を行った結果、ウリ類炭疽病菌を含む3種の<i>Colletotrichum</i>属菌が、その付着器直下の侵入菌糸の基部周辺でリング状のエフェクター蓄積を共通して示すことが明らかになった。さらに、ウリ類炭疽病菌に近縁かつ異なる宿主特異性を示すアルファルファ炭疽病菌が、ウリ類炭疽病菌との共接種条件下では本来の宿主ではないキュウリに対して侵入できることを示した。これらの結果から、ウリ類炭疽病菌と他の近縁菌の宿主特異性の違いは、エフェクター分泌様式などの相違ではなく、それぞれの菌が分泌するエフェクターのレパートリーの違いに基づく植物免疫抑制の可否に起因すると推察された。</p> <p>第2章では、続いて、本菌の宿主特異性に関わるエフェクターを探索するため、異なる宿主を持つ近縁種との比較から候補遺伝子を探索した。その結果、本菌のキュウリおよびメロンへの病原性に寄与するエフェクター遺伝子<i>EPC1</i>について、その宿主特異性への関与が示唆された。<i>EPC1</i>はウリ類炭疽病菌の5菌株全てで高い発現量を示す一方で、ウリ科に感染しない近縁な病原菌では変異により遺伝子が壊れているか、あるいはその発現量が顕著に低かった。このことからエフェクター<i>EPC1</i>はウリ類炭疽病菌特異的に働き、宿主特異性に寄与する因子であることが示唆された。一方で、<i>EPC1</i>破壊株の病原性低下は限定的であり、宿主特異性に関与する未同定のエフェクターが存在することが予想された。</p> <p>そこで第3章では、比較する菌の種数・系統数を増やしたRNAシーケンス解析などの比較解析を実施し、ウリ類炭疽病菌の宿主特異性に関与するエフェクターの更なる探索を行った。続いて、選抜した候補遺伝子について、その標的遺伝子破壊株を作出し、作出した破壊株をキュウリ (品種 四葉) に接種した結果、その病原性の有意な低下は観察されなかった。さらに候補のうち、6遺伝子については、当該6遺伝子がすべて破壊された6重変異株を作出し、キュウリ (四葉) に接種したが、やはり病原性の有意な低下は観察されなかった。しかし、この6重変異株を様々なウリ科作物に接種した結果、複数のメロン系統に対する病原性の有意な低下が確認された。一方で、この6遺伝子の単一破壊株は、これらのメロン系統に対する病原性の有意な低下は示さなかった。したがって、この6遺伝子の中の複数の遺伝子が、当該メロン系統に対する宿主特異性に寄与していることが推察された。この6重変異株が特定のメロン系統にのみ、その病原性を低下させた発見は、ウリ類炭疽病菌のエフェクターの中</p>			

には、エフェクターEPC1のようにキュウリ、メロンに共通して必要なエフェクターだけでなく、特定のメロン系統への病原性にのみ必要なエフェクターも存在することを示している。この発見は、植物病原糸状菌のエフェクターがどのように宿主特異性を形作っているかについて、新しい考え方を提示している。以上のように、本研究では近縁菌との比較解析を通じて、ウリ類炭疽病菌の宿主特異性に関与するエフェクターを複数発見することに成功した。これらのエフェクターの機能解明を進めることで、今後、ウリ類炭疽病菌、ひいては植物病原菌の宿主特異性決定メカニズムに迫ることができると期待される。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

植物病原糸状菌は作物生産において甚大な被害を引き起こしているが、その一方で、それぞれの種は系統的に限られた作物種にしか感染できないことが多い。このことは宿主特異性と呼ばれるが、多くの場合、その成立機構の分子的背景は未解明である。本研究では、植物病原糸状菌の宿主特異性成立メカニズムを明らかにすることを目的として、ウリ類炭疽病菌とその近縁種の間で見られる宿主特異性の違いに注目し、その分子的背景の解明に取り組んでいる。まず、本研究は、ウリ類炭疽病菌と宿主特異性を異にする近縁菌間のその宿主特異性の違いは、エフェクター分泌様式などの相違ではなく、それぞれの菌が分泌するエフェクターのレパートリーの違いに基づくことを示唆し、この考えに基づき、本菌の宿主特異性の関与するエフェクターの探索を実施している。その結果、まず、ウリ類炭疽病菌のキュウリおよびメロンへの病原性に寄与するエフェクター遺伝子*EPC1*が、本菌に特異的なエフェクターであることを明らかにし、その宿主特異性に寄与することを示唆している。そして、更なる探索の結果、*EPC1*のようにキュウリ、メロンに共通して必要なエフェクターだけではなく、特定のメロン系統への病原性にのみ必要なエフェクターが存在することを明らかにしている。本研究の評価できる点は以下の通りである

1. ウリ類炭疽病菌と近縁菌間の宿主特異性の違いは、エフェクター分泌様式などの相違ではなく、それぞれの菌が分泌するエフェクターのレパートリーの違いに基づくことを示唆した。
2. キュウリおよびメロンへの病原性に寄与するエフェクター遺伝子*EPC1*が、ウリ類炭疽病菌に特異的なエフェクターであることを明らかにし、その宿主特異性に寄与することを示唆した。
3. *EPC1*のようにキュウリ、メロンに共通して必要なエフェクターだけではなく、特定のメロン系統への病原性にのみ必要なエフェクターが存在することを明らかにした。

以上のように、本論文は植物病原糸状菌の宿主特異性成立機構に関して、これに関わる複数のエフェクターの同定に成功しており、得られた成果より、植物病原糸状菌の宿主特異性とエフェクターの関係について、新たな知見を得ることに成功している。これらの成果は、植物病理学、植物免疫学、微生物学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和5年2月20日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）