

氏名	あさ くら ま こと 朝 倉 万 琴
学位(専攻分野)	博士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1665 号
学位授与の日付	平成 19 年 11 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生物学専攻
学位論文題目	Studies on metabolic function required for infection mechanism of <i>Colletotrichum lagenarium</i> (ウリ類炭疽病菌の病原性に関する代謝機構の研究)
論文調査委員	(主査) 教授 奥野哲郎 教授 遠藤 隆 准教授 田中千尋

論 文 内 容 の 要 旨

糸状菌病の防除は安定した食糧確保のための重要な課題の1つであり、より効果的な糸状菌防除法を開発するためには、糸状菌の感染戦略を詳細に理解することが非常に重要である。植物病原糸状菌であるウリ類炭疽病菌 (*Colletotrichum lagenarium*) は、植物に感染するために付着器と呼ばれる感染器官を形成する。この器官分化は外界の栄養に依存せず、自身の貯蔵物質の代謝に依存して成立していると推定されている。本菌の植物感染には、オルガネラの一つであるペルオキシソームの機能が必要であることがこれまでに示されていたが、その詳細は不明であった。本論文では、貧栄養環境下におけるウリ類炭疽病菌の感染戦略と代謝メカニズムの関係に焦点を当て研究を行った。その主な内容は以下のとおりである。

1. ペルオキシソーム内の代表的な代謝経路として脂肪酸 β 酸化経路とそれに続くグリオキシル酸回路が挙げられる。グリオキシル酸回路の役割を調べるため、その構成酵素イソクエン酸リアーゼをコードする *ICL1* 遺伝子をウリ類炭疽病菌より単離し、その機能解析を行った。*icl1* 破壊株は、ペルオキシソーム形成に欠損を示しかつメラニン化の低下した付着器を形成する *pex6* 破壊株と同様に脂肪酸培地上での生育欠損を示したが、野生株と同様のメラニン化した付着器を形成した。この結果は、脂肪酸の β 酸化経路反応で生じたアセチル CoA が、グリオキシル酸回路を介することなく直接メラニン合成に用いられていることを強く示唆した。しかし、*icl1* 破壊株が形成した付着器はメラニン化が正常であるにもかかわらず、宿主植物細胞への侵入ステップに欠損を示した。これらの結果より、ペルオキシソーム内の二つの代謝経路、脂肪酸 β 酸化経路とグリオキシル酸回路が感染プロセスにおいて異なるステップに貢献していることが明らかとなった。

2. ウリ類炭疽病菌におけるペルオキシソーム代謝系の制御因子の同定を目的として、出芽酵母や哺乳類において糖や脂肪酸の代謝制御に関わる Snf1 に着目した。本菌の *SNF1* ホモログを単離し、その遺伝子破壊株を作出した。作出した *snf1* 破壊株は病原性を失っており、本遺伝子がウリ類炭疽病菌の感染プロセスに必須であることが明らかとなった。*snf1* 破壊株は付着器におけるメラニン化および脂肪酸培地における生育低下を示した。*snf1* 破壊株が *pex6* 破壊株と共通の表現型を示した結果は、*SNF1* がペルオキシソーム代謝制御に関与することを強く示唆した。

3. ウリ類炭疽病菌の分生胞子に多数存在する脂肪顆粒は、感染プロセスの進行に伴い急激に分解される。興味深いことに、*pex6* 破壊株および *snf1* 破壊株において脂肪顆粒が顕著に残存することを発見した。さらに、その下流に位置するメラニン合成経路を遮断した場合の脂肪顆粒分解への影響について、種々のメラニン合成阻害剤ならびにメラニン合成遺伝子破壊株を用いて調べた。その結果、メラニン生合成の初期反応であるポリケチド合成の阻害により、脂肪顆粒分解阻害が生じることが明らかとなった。これらの結果は、感染プロセスにおける脂肪顆粒の分解が、二次代謝産物であるメラニンの合成初期反応によるフィードバック制御を受けることを強く示唆した。

4. 多くの真核生物において、貧栄養環境下において自身のタンパク質やオルガネラを非選択的に液胞で分解し、リサイクリングするオートファジーシステムが機能することが知られている。ウリ類炭疽病菌においても貧栄養環境および付着器形成プロセスでオートファジーが機能することを明らかにした。さらにオートファジーに必須の因子 Atg8 について機能解析

を行った。*atg8*破壊株は病原性を失っており、発芽および付着器形成のプロセスに欠損を示した。また*atg8*破壊株が貧栄養条件下および付着器形成プロセスにおけるオートファジーの欠損を示したことから、オートファジーを介したタンパク質分解が本菌の感染器官形成初期プロセスに重要な役割を担うことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

植物病原糸状菌であるウリ類炭疽病菌は、植物に感染するために付着器と呼ばれる感染器官を形成する。この器官分化は外界の栄養に依存せず、自身の貯蔵物質の代謝に依存して成立していると推定されている。これまでに本菌の植物感染には、ペルオキシソームの機能が必要であることが示されていたが、その詳細は不明であった。本論文では、貧栄養環境下におけるウリ類炭疽病菌の感染戦略と代謝メカニズムの関係に焦点を当て研究をおこなった。評価すべき点は以下のとおりである。

1. ウリ類炭疽病菌のペルオキシソーム代謝系の解析から、ペルオキシソーム内の β 酸化経路とグリオキシル酸回路が本菌の病原性に重要であり、また、それら二つの経路が付着器のメラニン化と植物体内への侵入という感染プロセスにおいて異なるステップにそれぞれ貢献していることを明らかにした。

2. ウリ類炭疽病菌におけるペルオキシソーム代謝系の制御因子の解析を進め、動物細胞において脂肪酸の β 酸化反応を正に制御していると推定されるSnf1キナーゼの同定に成功した。また、*SNF1*遺伝子の機能解析を行い、本遺伝子がウリ類炭疽病菌の感染プロセスに必須であることを明らかにした。

3. 感染プロセスにおける脂肪顆粒分解とその制御機構の解析から、ペルオキシソーム代謝系の機能不全が脂肪顆粒の分解を抑制することを発見し、その抑制の主因が、メラニンの生合成経路の停滞にあることを明らかにした。この結果は、メラニン経路という二次代謝産物の合成経路が、一次代謝である脂肪顆粒分解の制御に関与するという興味深い事実を示すものである。

4. ウリ類炭疽病菌においても貧栄養環境下および付着器形成過程でオートファジーが機能することを明らかにした。さらにオートファジーに必須の因子*Atg8*の機能解析を行い、オートファジーを介したタンパク質分解が本菌の感染器官形成初期プロセスに重要な役割を担うことを明らかにした。

以上のように、本論文は、栄養が乏しい植物上において、病原菌が感染を成功させるためにどのように自身の貯蔵物質を利用しているのかについて、用いられる代謝システムとその制御システムを具体的に明らかにしたものであり、植物病理学、分子細胞生物学および微生物学の分野に寄与するところが大きい。また、本論文で得られた新知見は、新たな感染阻害剤の標的部位を提供するなど、糸状菌防除のための新たな技術開発への貢献が期待できる。

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、平成19年10月24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。