

氏名	きくちたいせい 菊地泰生
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	論農博第 2620 号
学位授与の日付	平成 18 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Studies on Nematode Parasitism Genes of the Pine Wood Nematode <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> (マツノザイセンチュウの寄生遺伝子に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 奥野哲郎 教授 遠藤隆 教授 二井一禎

論文内容の要旨

マツノザイセンチュウはマツ材線虫病の病原体である。わが国における本病による被害は甚大で、日本各地で毎年多くの松が枯死している。さらに近年、中国、韓国などの東アジア地域およびポルトガルにおいても本病の発生が報告され、世界的なレベルで被害の拡大が危惧されている。市民の環境意識の高まりと被害地域の拡大から、これまでの農薬散布あるいは伐倒駆除による防除法に代わる、新たな防御技術の開発が求められている。その開発のためには、まずマツノザイセンチュウの松寄生のメカニズムについての分子レベルでの深い理解が必要である。

これまで、マツノザイセンチュウについての生活史といくつかの生態的な側面についてはよく調べられてきた。一方、本線虫の基礎的な生物学や宿主-線虫間の相互作用についての分子生物学的知見はほとんどなかった。そこで、本研究では、まず遺伝子研究の基盤を整備することを目的として、本線虫をゲノム科学的なアプローチ(EST解析: Expressed Sequence Tag Analysis)によって解析し、遺伝子配列データを大量に獲得した。この解析により約6,000遺伝子に相当する13,300のESTを獲得し、アノテーションを付与した後、データベースに格納した(第2章)。

得られたEST配列の中から植物への寄生に関与する遺伝子として3種の細胞壁分解酵素遺伝子(セルラーゼ、 β -1,3グルカナーゼ、ペクチン分解酵素)を単離し、それぞれを分子生物学・生化学的な手法を用いて解析した。その結果、これらの酵素はいずれも、ゲノム上に遺伝子ファミリーとして存在すること、線虫の食道腺器官で生産され口針から分泌されていること、細胞壁に作用することで線虫の寄生に積極的に関与していることが示された。

このうちセルラーゼは glycosyl hydrolase family45 (GHF45) に分類されるもので、他の植物寄生線虫(シストセンチュウとネコブセンチュウ)が持つセルラーゼ (GHF5 に分類される) とは全く異なるタイプのものであった。系統解析はこの酵素遺伝子が糸状菌からの遺伝子水平転移により獲得された可能性を示唆した(第3章)。

β -1,3グルカナーゼは糸状菌細胞壁の分解に関与し、線虫の菌食性に重要な役割を果たしていると考えられた。 β -1,3グルカナーゼ活性を持つ酵素は今回が線虫類で初の報告であり、系統解析の結果は本酵素遺伝子がバクテリアからの水平転移によって獲得された可能性を示唆した(第4章)。

ペクチン分解酵素(pectate lyase)は線虫の植物体内での摂食と移動に特に重要な役割を果たしていると考えられた。この酵素は他の植物寄生線虫(シストセンチュウとネコブセンチュウ)の酵素と同じファミリーに分類されるものであった。両者の相同性は顕著に高くはなかったが、おそらく同起源であろうと考えられた(第5章)。

以上の解析から、マツノザイセンチュウはネコブセンチュウやシストセンチュウなどの他の植物寄生線虫とは異なるユニークな寄生戦略を持っていること、さらに、線虫の寄生能力の進化において遺伝子水平転移が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

マツ材線虫病は日本及び東アジアで最も深刻な森林病害の一つである。近年はヨーロッパにも侵入し、被害の拡大

が世界的に危惧されている。

これまでの植物寄生線虫の寄生関与遺伝子の研究は、シストセンチュウとネコブセンチュウに限られており、これらと系統的、生態的に異なる線虫ではほとんど行われてこなかった。マツノザイセンチュウはこれらの植物寄生線虫と同じクレード IVb に分類される。しかし、両者の類縁関係は比較的弱く、マツノザイセンチュウはむしろ菌食性線虫の仲間に近いと考えられる。また、植物への寄生方法もシストセンチュウやネコブセンチュウと異なる。したがって、マツノザイセンチュウの植物寄生遺伝子の研究は、マツノザイセンチュウの寄生メカニズムの解明に不可欠であると同時に、線虫の植物寄生性の進化を理解する上でも重要である。本論文ではマツノザイセンチュウをゲノム科学的な手法を用いて解析し、得られた寄生関与遺伝子とその役割および進化について多くの新たな知見を明らかにした。評価すべき点は以下の通りである。

1. マツノザイセンチュウの EST 解析を行い、遺伝子配列情報を大量に獲得して、データベースを作製した。この情報は今後のマツノザイセンチュウにおける遺伝子研究の基盤となるものである。また、線虫類におけるゲノミクス研究を俯瞰した際、これまで対象とされてきた線虫と系統的、生態的に異なる線虫の解析を行ったことは意義が大きい。

2. これまでマツノザイセンチュウの懸濁液がセルラーゼ活性を持つことは知られていたが、遺伝子を同定し、線虫自身がセルラーゼを生産していることを示したのは本研究が初めてである。また、本線虫のセルラーゼは glycosyl hydrolase family45 に分類されるもので、このタイプのセルラーゼは線虫類として初めてのものである。さらに、糸状菌との類似から、糸状菌からの遺伝子水平転移での獲得が示唆されたことは進化的に興味深い。

3. β -1,3グルカンは糸状菌細胞壁の主成分である。本研究では菌食性のマツノザイセンチュウが β -1,3グルカナーゼ遺伝子を持ち、酵素を口針から分泌していることを明らかにした。線虫類での β -1,3グルカナーゼの報告は本研究が最初である。

4. 動物界において知られているペクチン分解酵素は、植物寄生線虫由来のもののみである。本研究はマツノザイセンチュウがペクチン分解酵素の一種である pectate lyase の遺伝子を持っていることを明らかにし、植物寄生への関与を示した。

以上のように、本論文は重要な森林病害微生物であるマツノザイセンチュウにおけるゲノミクスと寄生メカニズムに関して新たな知見を与えるものである。得られた成果は、マツノザイセンチュウにおける遺伝子解析研究、およびマツ材線虫病害に対する新たな防御技術の開発に有用なものであり、植物病理学、樹病学、および微生物環境制御学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して認める。

なお、平成18年10月16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。