

氏名	竹内 香純
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第2829号
学位授与の日付	平成16年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	植物病原細菌 <i>Pseudomonas syringae</i> のフラジェリン糖鎖修飾と 宿主特異性決定機構の解析
論文審査委員	教授 一瀬勇規 教授 白石友紀 教授 杉尾 剛

学位論文内容の要旨

植物病原細菌 *Pseudomonas syringae* の各病原型 (pathovar) は宿主に対して病原性を、非宿主に対して過敏反応を誘導する。当研究室ではこれまで、各 pathovar のべん毛構成タンパク質フラジェリンが、非宿主に対して過敏反応 (HR) を誘導するエリシターとして機能すること、その HR 誘導特異性が翻訳後修飾により決定されることを示してきた。本研究では、フラジェリンの糖鎖修飾に関与する遺伝子群に着目し、宿主特異性における糖鎖修飾の役割について解析を行った。

P. syringae pv. *glycinea* および pv. *tabaci* のフラジェリン遺伝子 *fliC* の周辺領域を探索した結果、*fliC* の上流に3つの ORF (*orf1*, *orf2*, *orf3*) を見いだした。*orf1* と *orf2* から推定されるタンパク質は、推定糖転移酵素と相同性を示し、*orf3* の推定産物はアシル基転移酵素合成タンパク質と相同性を示した。それらの欠損変異株 ($\Delta orf1$, $\Delta orf2$, $\Delta orf3$) を作出したところ、 $\Delta orf1$ 由来のフラジェリンは糖鎖修飾がなされていないこと、 $\Delta orf2$ 由来のフラジェリンは糖鎖修飾が段階的であることが分かった。

両 pathovar の野生株および各変異株を、宿主と非宿主に接種したところ、変異株の接種では、宿主に対する病徴発現の程度が低下し、非宿主に対しては病徴様の変化を引き起こすとともに活性酸素種生成の誘導能が低下していた。このことから、フラジェリン糖鎖は宿主の決定に重要な役割を担っていることが示唆された。

次に糖鎖修飾解析を行うため、*P. syringae* pv. *tabaci* の糖鎖結合アミノ酸の同定を試み、6ヶ所の Ser を糖鎖結合アミノ酸として特定した。また、両 pathovar 野生株由来のフラジェリンの糖鎖修飾を比較解析するため、TOF MS 測定および単糖組成分析を行った。いずれのフラジェリンも、不均一性を有していること、糖鎖修飾部位が Asn¹³⁶-Lys²⁵⁵ の間に存在することなどが明らかとなった。

論文審査結果の要旨

近年、植物病原細菌のべん毛構成糖タンパク質フラジェリンは非宿主植物に過敏感反応を誘導するエリシターとして機能することが見出されてきた。本論文はフラジェリンの糖鎖修飾酵素遺伝子を同定するとともに、その欠損変異株を用いて糖鎖が植物相互作用において重要な役割を示していることを示したものである。これまでタンパク質の翻訳後修飾は真核生物固有の現象であり、原核生物では糖タンパク質はないものと広く認識されてきたが、近年病原細菌の表層タンパク質であるべん毛のフラジェリンや繊毛のピリンが糖タンパク質であることが見出され、原核生物においても翻訳後修飾が存在することが明らかにされてきた。しかしながら糖鎖の意義については全く明らかではなかった。本研究では糖鎖の付いた野生株に対し、糖鎖を欠損させた変異株は宿主に対する病原性が低下する一方、非宿主に対して病徴様の変化を引き起こすことを見出した。これらの結果は糖鎖が細菌の病原性において重要な因子であることと、糖鎖がエリシター分子フラジェリンをマスクすることにより、宿主の認識・迅速な防御応答の始動を回避している可能性を示唆している。本研究では更に糖鎖の結合アミノ酸はべん毛構造の外側に位置すると考えられる6個のセリンであることを明らかにし、セリンをアラニンに置換させた変異株も非宿主に対する過敏感反応誘導能と病原性が低下することを見出した。また、TOF-MS分析により1セリンあたり約540 Daの糖が結合していることを明らかにした。これらの結果は、糖鎖を介した植物病原細菌と植物との相互作用を分子レベルで明らかにしたものである。以上のことから、本論文は博士(農学)に値する論文であると判断した。