

(様式第9号)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Kheder Ahmed Abd El-Aziz Zakaria El-Sai
審査委員	<p>主査 児玉基一郎 (印)</p> <p>副査 尾谷 浩 (印)</p> <p>副査 伊藤 真一 (印)</p> <p>副査 前川二太郎 (印)</p> <p>副査 荒瀬 榮 (印)</p>
題目	Molecular mechanisms of pathogenicity of the tomato pathotype of <i>Alternaria alternata</i> (トマトアルターナリア茎枯病菌における病原性発現の分子機構に関する研究)
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>植物病原糸状菌は種々の発病戦略を進化させることにより、植物との親和性関係を築いている。菌の病原性決定因子に関して、特定の病原菌が宿主特異的毒素 (host-specific toxin, HST) を生産することが知られている。トマトアルターナリア茎枯病菌 (<i>Alternaria alternata</i> tomato pathotype、茎枯病菌) は宿主特異的AAL毒素を生産し、感受性トマトに病害を引き起こす。一般的に、HSTは特異的病原性決定因子とみなされている。一方、病原菌の生産するメラニン、多くの病原糸状菌において一般的病原性決定因子と考えられている。さらに、6-メチルサリチル酸 (6-MSA) などの非特異的毒素も一般的因子・病原力因子とみなされる。病原性発現戦略の統一的理解に向けては、菌の発病戦略を特異的因子と一般的因子に分割して、それぞれ分子レベルの解析を行うことが重要である。本研究では、茎枯病菌を題材に、特異的因子としてのAAL毒素合成、また、一般的因子としてメラニンと非特異的毒素6-MSA合成に着目し、これら因子と菌の病原性発現の関連を分子レベルで解析・検討した。さらに、罹病植物組織内における菌の伸展と毒素生産を確認することは、毒素の病理学的意義を検討する上で重要である。そこで、茎枯病菌感染トマト植物内におけるAAL毒素および菌の分布を比較検討した。植物病原菌における発病戦略の統一的理解は、新たな病害制御技術の創成にも繋がることが期待される。</p> <p>1. 茎枯病菌におけるメラニン生合成遺伝子ALM1およびBRM2-1の機能解析</p> <p>メラニン生合成系路におけるポリケチド合成酵素遺伝子ALM1とTHN reductaseをコードするBRM2-1を、茎枯病菌ドラフトゲノム解析データより同定した。これら遺伝子の破壊株であるalm1変異体およびbrm2-1変異体は、それぞれアルビノおよび褐色化の表現型を示した。両変異体とも毒素生産および病原性には変化は認められなかった。一方、SEM観察より、両変異体においては孢子表面の突起構造が失われ、形態レベルでの変化が誘導されていた。さらに、両変異体ではUV照射に対する耐性が減少した。</p> <p>2. 茎枯病菌における6-MSA生合成遺伝子の機能解析</p> <p>非特異的毒素6-MSAの生産は、ポリケチド生合成酵素遺伝子である6-MSA生合成酵素 (6-MSAS) 遺伝子によって支配されている。そこで、ドラフトゲノム解析データより6-MSAS遺伝子 (AaMSAS) を同定し、遺伝子ターゲティングにより機能解析を試みた。遺伝子破壊株の孢子生産および菌糸成長、形態等において変化は認められなかった。</p>	

3. 茎枯病菌におけるAAL毒素生合成遺伝子 (*ALT*) クラスターに含まれるセラミド生合成遺伝子 *ALT7* (トマトの茎枯病/AAL毒素抵抗性遺伝子 *Asc1* のホモログ) の機能解析

AAL毒素はセラミド合成系阻害により感受性細胞にアポトーシスを引き起こす。抵抗性植物における毒素耐性は、酵母 *Lag1* ホモログである *Asc1* 遺伝子によって決定されている。*ALT* クラスターに座乗し、acyl-CoA 依存セラミド生合成遺伝子と考えられる *ALT7* を茎枯病菌において同定した。*ALT7* および *Asc1* は、ともにセラミド生合成遺伝子に特徴的な TLC (TRAM/*Lag1*/CLN8) ドメインを保有し、*LASS/Lag* ファミリーに属する。これらの結果から、*ALT7* および *Asc1* は、それぞれ植物および病原菌由来であるが、共通の毒素耐性遺伝子であるとの仮説を提唱した。本仮説を立証するために、*ALT7* の機能解析を遺伝子ターゲティング法によって行った。*ALT7* 欠損変異株の成長、形態、毒素感受性、毒素生産および病原性は野生株と同様であった。以上の結果から、本遺伝子は *ALT* クラスターに含まれるものの、毒素耐性遺伝子としては機能していない可能性が示唆された。

4. 茎枯病菌が感染したトマト植物組織内における病原菌および宿主特異的AAL毒素の分布

茎枯病菌が生産するAAL毒素はマイコトキシンであるフモニシンの構造類縁体であり、その生物活性も類似する。罹病植物組織内における病原菌進展と菌による毒素生産の確認は、毒素の病理学的意義とリスクの評価のために重要である。抵抗性植物品種上において、病原菌および毒素は接種部位のみに局在していた。一方、感受性品種上では、毒素の広範な分布と病原菌の進展が確認された。本研究におけるAAL毒素の罹病植物組織内分布の解析結果から、本毒素の病理学的意義が確認されるとともに毒素による汚染リスクが明確となった。

本研究により得られた成果は、植物病原糸状菌における病原性発現機構の理解に大きく貢献し、学位論文として十分な価値を有すると判定した。