学術奨励賞受賞者研究要旨

トマトアルターナリア茎枯病菌の病原性に関する分子生物学的研究[†]

赤 松 創*

AKAMATSU, H.*: Molecular biological studies on pathogenicity of *Alternaria alternata* tomato pathotype

多くの重要植物病原菌を含む *Alternaria* 属菌の中で、少なくとも10例において、宿主特異的毒素 (host-specific toxin, HST) 生産と菌の病原性発現との関連が認められている。これら HST 生産菌のうち7つの病原菌は、*A. alternata* の病原性変異系統である病原型 (pathotype) であり、腐生性

A. alternata が病原菌へ進化したものであると考えられている。本研究では、主として AAL 毒素を生産するトマトアルターナリア茎枯病菌 (*A. alternata* tomato pathotype, 茎枯病菌) に焦点をあて、HST 生合成遺伝子の解析を通して、菌の病原性獲得および進化の分子機構解明を進めた。

1. 茎枯病菌における遺伝子タギング

遺伝子タギングにより病原性関連遺伝子をクローニングするため、茎枯病菌の形質転換系を新たに確立した。ハイグロマイシン B 耐性を付与する形質転換プラスミドを用いて通常の PEG 法による形質転換を試みたが、形質転換頻度は低く、プラスミドの組込み様式は複雑であった。そこで、制限酵素が介在する組込み (restriction enzyme-mediated integration, REMI) に基づく形質転換手法を適用したところ、(1) 低濃度の制限酵素添加時に顕著な形質転換頻度の上昇が認められること、(2) ゲノム DNA 中へのプラスミドの組込みがランダムでありかつ単純化すること、(3) 高頻度に変異体が得られることが示され、REMI 法が本菌の遺伝子タギングにおいて有効であることを明らかにした。

2. *Alternaria* 属菌の核型解析

交配が不可能である *Alternaria* 属菌の遺伝解析を行う

ため、まずパルスフィールドゲル電気泳動法によって、HST 生産菌を含む *Alternaria* 属菌の核型を調査し、染色体数および総ゲノムサイズを明らかにした。次に、*A. alternata* の非病原菌と各種病原型の核型比較を行ったところ、各種病原型における 2.0 Mb 以下の染色体に顕著な多型が認められ、それら小型染色体は、非病原菌には存在しない事実を発見した。さらに、リンゴ斑点落葉病菌 (*A. alternata* apple pathotype) の AM 毒素生合成遺伝子 *AMT* が、本病原菌が保有する小型染色体に座乗することを明らかにし、*A. alternata* 各種病原型に保持されている小型染色体は、菌の生存には必要とされない conditionally dispensable (CD) 染色体であると結論した。*A. alternata* 病原型における CD 染色体の重要性は、病原型間のハイブリッド株および小型染色体欠失変異体の解析、AAL 毒素生産菌における毒素生合成遺伝子クラスターと染色体解析の結果からも支持された。

3. AAL 毒素生合成遺伝子の単離と解析

AAL 毒素がポリケチド様化学構造をもつことより、毒素生合成に関与するポリケチド合成酵素 (PKS) 遺伝子のクローニングを PCR 法によって試みた。茎枯病菌が特異的に保有する PKS 遺伝子のターゲティングを通して、最終的に AAL 毒素生合成に必須である PKS 遺伝子 *ALT1* のクローニングに成功した。さらに、(1) *ALT1* が、遺伝子クラスターを形成していること、(2) 本遺伝子クラスターが、茎枯病菌に特異的に存在する CD 染色体に座乗することを現在までに明らかにしている。

本研究を行うにあたり、終始ご指導を賜りました鳥取大学甲元啓介名誉教授、尾谷浩教授、児玉基一朗助教授、信州大学伊藤靖夫助手をはじめ、ご協力頂いた多くの方々に深い感謝の意を表します。

[†] 平成16年3月28日 平成16年度大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

* 鳥取大学農学部植物病理学研究室 Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101 Koyama-Minami, Tottori 680-8553, Japan
現在: ワシントン州立大学 Department of Plant Pathology, Washington State University, Pullman, WA 99164-6430, U.S.A.