

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 菅原 杏子

ファイトプラズマは、昆虫によって媒介される微小な植物病原細菌の一群で、主要作物を含む 700 種以上もの植物に感染する。ファイトプラズマは宿主植物に、黄化、草丈の萎縮、枝分かれの増加、花器官の葉化などを引き起こし、作物においてはしばしば品質を低下させ、収量を減少させる。このため、ファイトプラズマが植物の形態形成に影響する分子機構を明らかにし、その防除法を確立することは重要な課題である。

近年、ファイトプラズマの引き起こすてんぐ巣症状（萎縮叢生症状）には、分泌タンパク質の一つである *Tengu-su inducer (TENGU)* が関与すると示唆されている。TENGU は 70 アミノ酸の前駆体として転写翻訳されるファイトプラズマの分泌タンパク質であり、このうち C 末端の 38 アミノ酸からなる成熟型タンパク質部分が植物内に分泌される。TENGU の成熟型タンパク質は、植物のオーキシン応答を抑制し、てんぐ巣症状を誘導することが示されているが、詳細な作用機構は不明である。また、ファイトプラズマ属においててんぐ巣症状は一般的に見られる症状であるが、TENGU が保存された病原性因子であるのかは明らかではない。本研究では、ファイトプラズマのてんぐ巣症状誘導機構における TENGU の保存性、および TENGU の分子レベルの性状解析を行い、ファイトプラズマのてんぐ巣症状誘導機構の解明を目指した。

ファイトプラズマ属で、てんぐ巣症状誘導機構が保存されているのかを明らかにするため、TENGU の保存性について解析した。多数のファイトプラズマ系統を収集し、*tengu* 相同遺伝子の単離を試みた結果、はじめに TENGU が単離されたタマネギ萎黄病ファイトプラズマ系統に近縁な系統 11 系統から *tengu* 相同遺伝子が単離された。一過的発現実験の結果 *tengu* 相同遺伝子は、全て病徴誘導活性を有する機能的なオーソログであり TENGU がファイトプラズマの一部のグループに保存された病原性因子であることが示された。一方で、TENGU を持たないファイトプラズマも存在し、ファイトプラズマ属のてんぐ巣症状誘導メカニズムは複数存在することが示唆された。

ファイトプラズマの一部で保存されたてんぐ巢症状誘導機構であることが示唆された TENGU について、その機能領域を探索し、TENGU 成熟型タンパク質の N 端側 11 アミノ酸が病徴誘導機能に十分な領域であることを明らかにした。植物の生理活性ペプチドのうち、20 アミノ酸以下の短い機能領域を持つものは、翻訳後プロセッシングにより機能領域が切り出されて働くことに着目し、TENGU がプロセッシングされるかを検証した。TENGU の glutathione-S-transferase 融合タンパク質を作出し、植物粗抽出液と混合したところ、切断が確認された。その切断部位は成熟型タンパク質の 12-13 アミノ酸、19-20 アミノ酸、20-21 アミノ酸の間の 3 カ所であった。このうち後者の 2 カ所におけるプロセッシングの産物である 19 アミノ酸と 21 アミノ酸からなるペプチド断片は効率よく検出されたい。

TENGU がプロセッシングされることが明らかになったことから、TENGU のプロセッシングと病徴誘導能との関連性を解析した。そのために、TENGU のプロセッシング部位の一つを挟む 12 番目と 13 番目のアミノ酸に変異を導入した変異体(12AA13)を作出したところ、12AA13 変異体は野生型 TENGU と比較してプロセッシング効率には差がないものの、12AA13 変異体ではプロセッシング産物である 19 あるいは 21 アミノ酸のペプチドが蓄積せず、野生型 TENGU よりも低い病徴誘導能を示した。この結果は、プロセッシングによって生じる 19, 21 アミノ酸のペプチドが病徴誘導に関わる可能性を示唆している。

本研究では、TENGU がファイトプラズマ属において保存された病原性因子であること、その機能領域が N 末端の 11 アミノ酸であり、プロセッシングにより切り出される 19, 21 アミノ酸のペプチドが病徴誘導に重要である可能性を示した。TENGU は既知の病原性因子と相同性のない機能未知のタンパク質であるが、本研究でその作用に植物の内在性ペプチドと共通点が見られたことは興味深く、今後ファイトプラズマによる病原性誘導機構を解明する上で貢献するところが大きいと考えられる。よって審査委員会全委員は、本論文が著者に博士（農学）の学位に値するものと認めた。