

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：植物病原細菌 *Pantoea ananatis* の遺伝子型と病原性の多様性に関する研究
2. 研究開発代表者： 瀧川 雄一（静岡大学創造科学技術大学院 教授）
3. 相手国研究代表者： T. A. Coutinho（プレトリア大学 自然科学・農学部 教授（南アフリカ））
4. 研究開発の成果

本研究は、日本および南アフリカの研究者が協力してイネ、トウモロコシ、ネギなど重要作物を侵す新興感染症病原の *Pantoea ananatis* について、その多様性を遺伝子レベルで解析し病原性の違いを遺伝子判別する手法を開発することを目的とする。

平成27年度においては、前年度までに発見した *P. ananatis* の新規病原性決定遺伝子領域 PASVIL について転写単位を RT-PCR によって明らかにし、プロモーター領域の候補を絞り込むことができた。また、同遺伝子領域を他の非病原性菌株に導入した時にも病原性を発揮すること、およびそのシステムを利用して PASVIL 内に多くのトランスポゾン挿入変異を導入し、病原性への遺伝子の関与の状況を明らかにするシステムを開発した。それにより、PASVIL 領域内の遺伝子は全てが病原性に必須であるわけではなく、発病に必要な不可欠な遺伝子と欠落しても影響の少ない遺伝子があることが明らかとなった。また相同組替えベクターを新たに開発して新たな病原性決定領域に特異的に変異を導入することができた。さらに南アフリカ側との共同研究により PASVIL 領域内での検出用プライマーが海外の菌株を含めた多くの菌株や他の *Pantoea* 属病原細菌での PASVIL の検出についても使えることおよび病原性迅速判定に有効であることが明らかになった。PASVIL の有無は病原性の有無と良く一致しており、この遺伝子領域が病原性決定の重要な因子であることを示唆しているとともに、タバコでの過敏感反応様反応などでは陰性となる株でも PASVIL 陽性のものがいくつか認められたことから、生物検定によらない有害性判定に大きく寄与すると考えられた。また、本研究において *P. agglomerans* の一部の菌株にも PASVIL 相同遺伝子があることが示されたが、遺伝子の相同性は 80%程度であることが判明し直近の水平伝達というよりもむしろ水平伝達後にある程度の時間が経過したことを示しており、今後やや配列の異なった PASVIL 様の領域が発見される可能性も示唆していると考えられた。

P. ananatis に存在する VI 型分泌機構の病原性への関与と機能について、変異導入ベクターにより変異株を作成することでその機能を解析することに成功した。それによれば、日本産のイネ分離株では VI 型分泌機構は病原性には関与しない一方で他の菌種との競合に関与していることが明らかとなり、南アフリカのタマネギ分離菌株で得られた結果とは一致しなかった。これにより *P. ananatis* での VI 型分泌機構の役割は少なくとも菌株によって異なっていることが示され、従来にない新知見が得られた。VI 型分泌機構の役割については病原性発現に関して影響の有無について両方の報告があるが、*P. ananatis* 全体として必須ではないことが示され、VI 型分泌機構による病原性判定は難しいものと結論された。

タバコでの抵抗性遺伝子発現の時間的な経過を明らかにし、典型的な過敏感反応と比べて発現する遺伝子の種類は同様であるが 1 2 時間程度の時間差で遅れて発現があがることが明らかとなった。さらに病原菌の PASVIL 遺伝子領域がタバコ葉内で強く誘導されていることを RT-PCR で初めて確認することができた。

さらに *Pantoea* 菌の分類についても、多くの株のゲノム解析からコアゲノムが理解され、多くの種が規定されたほか、*P. ananatis* の中でも多様性が認められ、病原性の保有が特定の系統群に限られるのではなく複数の系統の中に散在していることが明らかとなった。