

### 【審査結果の要旨】

本研究は、ウリ類炭疽病菌の感染器官の形態分化において、細胞周期制御が感染性に重要な役割を果たしていることを細胞周期制御因子の同定と機能解析により明らかにするとともに、さらにその機能の病原糸状菌における普遍性と特異性を明らかにしている。これらの成果は病原性に果たす細胞周期の意義に関して、新規の知見を提示するものである。

Chapter 1では、序論として、本研究の背景となる植物病害防除における植物病原糸状菌の感染機構研究の重要性、および植物病原糸状菌の細胞周期制御と感染過程における形態分化の関連性に関する現在までの知見と未解明な点について述べ、本論文の意義と目的を明らかにしている。

Chapter 2では、ウリ類炭疽病菌における植物感染成立に重要な新規の細胞周期制御因子を同定し、その機能を明らかにしている。

ウリ類炭疽病菌の病原性欠損変異株 PDM-1 株の変異遺伝子が出芽酵母において Rab GAP をコードし、M 期終了機構を抑制する *BUB2* 遺伝子の相同遺伝子であることを見出し、本遺伝子を *CoBUB2* と命名した。*cobub2* 破壊株では孢子の発芽、付着器形成過程において M 期が早期化することを見出し、さらに糸状菌で初めて導入することに成功した LacO/LacI-GFP システムによる染色体蛍光タギング法により、M 期の早期化はそれに先立つ G1/S 期移行の早期化によることを明らかにしている。さらに酵母ツーハイブリッド法により *CoBub2* は *CoBfa1* と GAP 複合体を形成することを示すとともに、GTPase *CoTem1* をコードする遺伝子の恒常不活化型の導入解析により、本遺伝子が *CoBub2/CoBfa1* の下流因子として G1/S 期進行制御を担うことを明らかにしている。

さらに、細胞周期制御の病原性への関与を評価するために *CoBUB2*、*CoBFA1* および *CoTEM1* の各遺伝子破壊株の形質を評価したところ、これらの遺伝子破壊株は侵入菌糸形成に必要な細胞骨格因子であるアクチンおよびセプチン集合体の動態異常を示すとともに、感染部位における植物の防御応答を誘導し、植物への感染能が顕著に低下することを示した。

以上の結果から、ウリ類炭疽病菌において *CoBub2/CoBfa1* 複合体は GTPase *CoTem1* を介して G1/S 期の進行を抑制し、感染器官の形態形成および植物への感染確立に必須であると結論づけている。

Chapter 3 では、トランスクリプトーム解析に基づきウリ類炭疽病菌における *CoBUB2* の細胞周期制御と病原性への関与を検討するとともに、アブラナ科炭疽病菌およびイネいもち病菌における *BUB2* の細胞周期、隔壁形成に関する機能の保存性を明らかにしている。

ウリ類炭疽病菌の野生株と *cobub2* 破壊株の感染過程におけるマイクロアレイ解析により、G1/S、G2/M 期進行を司る SCF (Skp/Cullin/F-box) 複合体を含むユビキチン-プロテアソーム系や S 期関連遺伝子群における大幅な発現変動を見

出した。さらに、転写因子、小型分泌タンパク質、糖質関連酵素、膜輸送体に関連する遺伝子についても発現変動が認められ、これらの遺伝子発現の変動が病原性低下の要因となる可能性を示唆した。

一方、ウリ類炭疽病菌とは異なり、発芽胞子の内部に隔壁を形成するアブラナ科炭疽病菌およびイネいもち病菌における *bub2* 破壊株において、ウリ類炭疽病菌と同様に G1/S 期の早期化と核分裂に伴う隔壁形成の頻度の低下を見出した。隔壁形成には隔壁形成開始機構 (SIN) およびアクチンリング収縮 (CAR) が必要である。SIN の構成要素の一つである Dbf2 およびアクチンマーカである Lifeact の細胞内局在解析を行った結果、野生株では Dbf2 および Lifeact シグナルが M 期後期に発芽胞子内の隔壁形成予定部位に観察されたが、*bub2* 破壊株ではこれらの局在頻度が低下した。さらに、アブラナ科炭疽病菌およびイネいもち病菌の *bub2* 破壊株は共に宿主植物への侵入能力の顕著な低下を示した。

以上の結果から、付着器を介した植物侵入を行う炭疽病菌といもち病菌に共通して、*BUB2* は G1/S 期進行を抑制し、核分裂に伴う隔壁形成を制御することを見出し、これらの細胞周期および隔壁形成制御が植物病原菌の感染確立に重要な役割を果たすと結論づけている。

Chapter 4 では、総括として、Chapter 2 と Chapter 3 の結果をまとめて、植物病原系状菌の細胞周期制御と感染過程における形態分化の関連性に関する分子レベルの制御機構を総括し、考察が加えられている。具体的内容は以下の通りである。

本研究の Chapter 2 ではウリ類炭疽病菌において Rab GAP 複合体 CoBub2/CoBfal が GTPase CoTem1 を介して G1/S 期の進行を抑制するという、これまで他の生物で報告されていた機能とは異なるユニークな現象を見出し、その細胞周期制御が感染器官の形態形成および感染確立に必須であることを明らかにした。本研究の Chapter 3 では、*BUB2* の下流では S 期関連遺伝子群および病原性関連遺伝子群の遺伝子発現が大きく影響を受けることを明らかにし、*BUB2* による細胞周期制御と病原性に関する情報ネットワークの基礎的知見を得ている。さらに、付着器を介した植物感染戦略をとるアブラナ科炭疽病菌、イネいもち病菌においても *BUB2* の G1/S 期の進行制御機能が共通していることを明らかにし、胞子発芽時の細胞周期と隔壁形成が植物感染確立に重要な役割を果たすことを見出した。

以上、本論文は、植物病原系状菌が植物感染を成立するにあたり、特徴的な細胞周期、隔壁形成機構を獲得してきたことを提唱するものであり、博士学位論文として価値があるものと判断した。

## 6 最終試験の結果の要旨

平成 29 年 2 月 9 日 午前 10 時 30 分より図書館視聴覚室において博士学位論文発表会を公開で行った。口頭発表後、質疑応答が行われた。質問は

植物病害防除における研究の意義、感染過程における細胞周期制御機構の特異性や病原性への関与などに関する結果の解釈など多岐にわたってなされたが、申請者は全ての質問に対し、適切に回答を行った。以上より、最終試験の結果については、審査員全員一致で合格とした。