HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Function of regulatory gene PoLAE2 on appressorium formation in rice blast fungus Pyricularia oryzae [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s) | PRAJANKET, PRADABRAT |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(農学) |
| Dissertation Number | 甲第14205号 |
| Issue Date | 2020-09-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/79472 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Prajanket_Pradabrat_review.pdf, 審査の要旨 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（農学）　氏　名　Prajanket Pradabrat

審査担当者　主査　教授　曾根輝雄（国際食資源学院）
副査　教授　増田　税
副査　客員准教授　北川　航
副査　講師　吹谷　智

学位論文題名

**Function of regulatory gene *PoLAE2* on appressorium formation in rice blast fungus *Pyricularia oryzae***

(イネいもち病菌の包括的制御遺伝子 *PoLAE2* の 付着器形成における役割)

本論文は英文 96 頁，図 42，表 4，5 章からなり，参考論文 1 編が付されている．

*Pyricularia oryzae* はイネの最重要病害イネいもち病の病原糸状菌である．本菌のイネへの感染は分生子が宿主植物上で発芽し，感染に特異的な細胞である付着器を分化させることによって起こる．付着器形成は，宿主表面の認識により環状 AMP (cAMP) の蓄積，cAMP 依存プロテインキナーゼ A(cPKA)の活性化などのシグナル伝達系が関与することが知られている．一方，*P. oryzae* を含む子嚢菌類ゲノム中には *laeA* という制御遺伝子が共通して保存されており，二次代謝産物の生産，形態分化や病原性の調節に関与していることが知られている．本研究ではイネいもち病菌から新たに発見された *laeA* ホモログである *PoLAE2* の付着器形成における役割の解明を目的として，*PoLAE2* 遺伝子の破壊変異株と相補株を用いた解析を行った．

## 1. *PoLAE2* の付着器形成と病原性における役割の解析

*PoLAE2* 破壊株 (Ina86-137Δ*lig4*Δ*lae2*) 及びその相補株 T9，T11 を作成した．本来の宿主であるイネより簡便なタマネギ表皮細胞を用いた付着器形成実験を行ったところ，野生株や相補株が高い付着器形成率を示したのに対し，*PoLAE2* 破壊株は付着器形成率の顕著な低下を示した．一方で本来の宿主であるイネに対し噴霧接種試験を行ったところ，全ての菌株によりいもち病の病徴が観察された．さらに葉鞘裏面接種により，*PoLAE2* 破壊株を含む全ての菌株で付着器形成が認められた．これらの結果は，*PoLAE2* 遺伝子が非宿主表面上での付着器形成に必要であるが，宿主表面における付着器形成や病原性には必要ではないことを示した．

## 2. *PoLAE2* のcAMPシグナル伝達における役割

イネいもち病菌の付着器形成には，cAMPシグナル伝達が関与することが知られている．そこで，PoLAE2が非宿主表面上での付着器形成におけるcAMP伝達に関与するかを，cAMP，あるいはcAMPを分解するホスホジエステラーゼの阻害剤であるIBMX (3-isobutyl-1-methylxanthine)を添加することによって調べた．その結果．*PoLAE2*破壊株のタマネギ表皮細胞上における付着器形成がcAMPあるいはIBMXの添加により回復することがわかった．さらに，P. *oryzae*の液体培養菌体におけるcAMPを高速液体クロマトグラフィーにより定量したところ，*PoLAE2* 破壊株のcAMP量は野生株や相補株に比べて有意に少ないことが示された．以上のことから，PoLAE2はcAMPシグナル伝達に関与することが明らかとなった．

## 3. PoLAE2のcAMPの調節に関わる遺伝子の転写解析

PoLAE2 の，細胞内 cAMP の調節に関わる遺伝子である *MAC1*（アデニル酸シクラーゼ遺伝子)と *PDEH*（ホスホジエステラーゼ遺伝子）の転写調節への関与を明らかにするために，*PoLAE2* 破壊株と，野生株，相補株の mRNA からの *MAC1* 及び *PDEH* の RT-PCR 解析を行った．その結果，いずれの遺伝子についてもこれらの菌株の間に転写量の顕著な差は確認されなかった．以上の結果から，*PoLAE2* は *MAC1, PDEH* 遺伝子の転写調節に直接的に関与していないことが示された．

以上の様に，本研究はイネいもち病菌の*PoLAE2*遺伝子は非宿主表面上での付着器形成に必要であることが明らかとなった．さらに，PoLAE2は細胞内cAMPレベルを調節し，シグナル伝達経路に関わることが明らかになった．本研究は*laeA*ホモログがcAMPレベルを調節する事を明らかにした最初の例であり，イネいもち病菌における付着器形成機構の解明のための重要な知見を明らかにした．

よって審査員一同は，Prajanket Pradabrat が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた．