研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テ	·一マ 和文) AB	共生型と病原型のコレトトリカム属菌のエフェクター分子の網羅的機能解析						
研究テーマ (欧文) AZ		Comparative analyses of effector proteins in between mutualistic and pathogenic <i>Colletotrichum</i>						
研究代表名	ከタカナ cc	姓)ヒルマ	名)ケイ	研究期間 в	2014 ~ 2016 年			
	漢字 CB	畫間	敬	報告年度 YR	2016 年			
	□-マ字 cz	Hiruma	Kei	研究機関名	奈良先端科学技術大学院大 学			
研究代表者 cp 所属機関・職名		奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・助教						

概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)

植物と相互作用する微生物の中には植物に感染し病徴を引き起こすものや、一方で、貧栄養等のストレス条件下で植物生長を促す共生微生物が存在している。また、これらの微生物はかけ離れた存在ではなく、植物生長を促す共生微生物が病気を引き起こす病原微生物と極めて近縁なケースもしばしば存在する。しかしながら、互いに近縁な病原菌と共生菌が一見180度異なる感染様式を取るメカニズムは明らかではない。

本研究では、糸状菌である Colletotrichum 属菌の中でも、リン等の栄養が枯渇した条件下でモデル植物シロイヌナズナを含むアブラナ科植物の成長を促す Colletotrichum tofieldiae (Ct)とその近縁種でありながら、シロイヌナズナに病害を引きおこす病原菌 Colletotrichum incanum (Ci)に着目して研究を行った。これまでの病原菌の研究から、病原菌はエフェクターと呼ばれる小分泌タンパクを宿主へ分泌することで植物免疫や植物発生を制御して感染を成立させることが明らかになってきている。そこで、本研究では特に、両菌の推定されるエフェクター分子に着目して比較解析を行った。

第一に、両者のゲノム配列を取得し、両菌の推定エフェクター数を推定したところ、病原菌 Ci や他の近縁の病原型 Coletotrichum 属菌(炭疽病菌)と比較して、共生菌 Ct ではその数が減少していた。

第二に、両菌がシロイヌナズナの根に感染中のトランスクリプトーム解析を行い、比較解析を行ったところ、共生菌 Ct と比較して病原菌 Ci 感染中にエフェクター遺伝子の誘導がより強く認められた。エフェクター因子は病原菌が植物免疫を抑制し感染を成立させるために重要であるが、同時に植物免疫によって認識され、より強固な抵抗性を発揮される危険性をはらんでいる。したがって、共生菌 Ctは、植物免疫によって認識されかねない余計なエフェクター因子の発現を抑制するように進化していたったことが推定された。

第三に、感染中に顕著に誘導されるエフェクターの中で、共生菌 Ct に特異的なエフェクター、両者に共通するエフェクター、さらには、病原菌 Ciに特異的なエフェクターに着目し、それらのエフェクターそれぞれを恒常的に発現するシロイヌナズナ形質転換体を網羅的に作出した。作出した共生菌 Ct エフェクターを発現する形質転換体の中には、例えば、発生に影響が出ている植物体等が含まれていたことから、共生菌 Ct のエフェクターが植物発生を制御していることが示唆された。同時に、これら、エフェクターを欠損した菌変異体も作出している。さらには、病原菌 Ciのエフェクターを共生菌 Ct へと形質転換し、共生菌 Ct が病原菌化するかどうか引き続き調査している。2017年度中に以上の成果をまとめて論文投稿予定である。

キーワード FA エフェクター Colletotrichum 属菌 共生菌 病原菌

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード ℸ△			研究課題番号 🗚					
研究機関番号 AC			シート番号					

発表文献 (この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。)										
雑誌	論文標題GB									
	著者名 GA		雑誌名 gc							
	ページ GF		発行年 GE					巻号 GD		
雑	論文標題GB									
誌	著者名 GA		雑誌名 GC							
	ページ GF	~	発行年 GE					巻号 GD		
雑誌	論文標題GB									
	著者名 GA		雑誌名 GC							
	ページ GF	~	発行年 GE					巻号 GD		
図書	著者名 HA									
	書名 HC									
	出版者 нв		発行年 HD					総ページ HE		
図 書	著者名 на									
	書名 HC									
	出版者 нв		発行年 HD					総ページ HE		

欧文概要 EZ

Some of the plant-associated microbes cause disease symptoms on plants, while some of the microbes promote plant growth under stress conditions such as nutrient-limiting conditions. Interestingly, these microorganisms are often closely related with each other However, it is not currently clear how the closely related microbes show opposite infection strategies in hosts. We recently have found that the root endophytic fungus $Colletotrichum\ tofieldiae\ (Ct)$ promotes plant groth of the model plant Arabidopsis in nutrient-limiting condisions, such as phosphorus, whereas the closely-related species, $Colletotrichum\ incanum\ (Ci)$, severely inhibited the plant growth. It has been reproted that pathogens establish infection by controlling plant immunity and/or plant development by secreting secretory proteins called effectors into hosts. In this study, comparative analysis was carried out focusing on presumed effector molecules of the both fungi.

Firstly, we obtained the genomic sequence of the both fungi, and predicted the estimated number of effectors. We found that $\mathcal{C}t$ has less effectors than the relative pathogenic $\mathcal{C}i$. Secondly, transcriptome analysis during infection of both fungi on the roots of Arabidopsis were conducted. We found that the induction of effector genes was more strongly observed during infection with $\mathcal{C}i$ as compared with $\mathcal{C}t$.

Thirdly, we cloned the effectors specific for symbiotic $\mathcal{C}t$, effectors common to both, and effectors specific to pathogen $\mathcal{C}i$, and transform these into Arabidopsis to get transgenic lines constitutively expressing these effectors in planta. Interestingly constitutive expression of some of the $\mathcal{C}t$ effectors affect plant growth in normal conditions, suggesting that $\mathcal{C}t$ effectors regulate plant growth. At the same time, we have generated fungal mutants knockouting these effectors to test whether the mutants have some defects in plant infection. Furthermore, we have transformed $\mathcal{C}i$ specific effector genes into $\mathcal{C}t$ to test which pathogenic effector(s) are critila to change symbiotic infection strateies to the pahogenic ones. These are currently ongoing.