

イネごま葉枯病菌 *Bipolaris oryzae* の光形態形成における ストレス応答型 MAP キナーゼ (YSAPK) シグナル伝達系の解析

木原淳一

目 的

近年、オゾン層の減少に伴う環境紫外線 (UV-B: 280–320 nm) の増加が懸念されている。環境紫外線は、イネごま葉枯病菌 (*Bipolaris oryzae*) をはじめとする植物病原糸状菌の伝播体である分生胞子の形成を誘起・促進する。イネごま葉枯病菌を用いたこれまでの研究で、我々は黒色色素メラニンの合成系遺伝子群とその転写制御遺伝子及び光回復酵素遺伝子の発現が近紫外光照射特異的に増加することを明らかにした (Kihara et al., 2004a, b)。しかし、その光シグナル (近紫外光) によって活性化するシグナル伝達経路については明らかにされていない。

MAP キナーゼは酵母からヒトに至るまで真核生物に普遍的に存在するセリン/スレオニンキナーゼで、細胞増殖・分化・アポトーシス・形態形成などの生命現象において重要な役割を果たすことが知られている。そこで今回、浸透圧・酸化ストレスをはじめとする各種ストレス応答に関与する糸状菌ストレス応答型 MAP キナーゼ (YSAPK) 遺伝子をイネごま葉枯病菌からクローニングし、光形態形成におけるストレス応答型 MAP キナーゼ遺伝子の機能解析を行なった。

材料及び方法

供試菌は、イネごま葉枯病菌 (*Bipolaris oryzae*) D9/F6-69 株を用い、本菌からの YSAPK 遺伝子 (*BoHog1*) のクローニングは、モデル糸状菌アカパンカビなどの YSAPK (*Hog1*) のアミノ酸配列を用いたディジェネレート法により行った。供試菌の遺伝子破壊は、薬剤 (ハイグロマイシン B) 耐性遺伝子 *hph* および *BoHog1* 遺伝子の部分配列を含むプラスミド pSHGDHog1 ベクターを用いた相同置換により行った。また供試菌の培養はすべて PDA 培地上で行い、浸透圧ストレス・殺菌剤条件は本培地にそれぞれ浸透圧ストレス条件は 0.2–1.0 M、殺菌剤条件は 0.01–100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度となるように添加したものをを用いた。

結果及び考察

遺伝子破壊により得られた 5 菌株のハイグロマイシン B 耐性株を用いて、*BoHog1* 遺伝子破壊の有無の確認をサザン解析により行った結果、そのうちの 4 菌株で *BoHog1* 遺伝子が破壊されていることを確認した。次に、野生株

及びこれら 4 菌株の *BoHog1* 破壊株 ($\Delta BoHog1$) における NaCl, KCl, sorbitol による浸透圧ストレス条件下での生育形態を調査した結果、いずれの浸透圧ストレス条件下においても野生株ではみられない顕著な生育阻害が $\Delta BoHog1$ においてのみ観察され、さらにはその伝播体である分生胞子の形態にも異常が見られた。また、YSAPK を異常活性化するジカルボキシイミド系殺菌剤イプロジオン・プロシモンを添加した条件下での生育形態においては、野生株がほとんど生育できなかったのに対し、 $\Delta BoHog1$ ではその生育阻害が約 40–60% に抑えられており、ジカルボキシイミド系薬剤に対する耐性がみられた。さらにイネ葉上における病斑数も上記殺菌剤処理区では増加傾向にあった。その一方で、 $\Delta BoHog1$ における分生胞子形成やメラニンの合成といった光形態形成への影響は、長時間 (3 時間～) 近紫外光を照射した場合においては認められず、分生胞子の形成・菌叢のメラニン化ともに野生株とほぼ同様であった。しかしながら短時間 (~5 分) の近紫外光照射では、 $\Delta BoHog1$ における分生胞子形成数が減少し、さらに、メラニン合成系遺伝子群の発現の低下傾向が認められた。

以上の結果より、イネごま葉枯病菌の *BoHog1* 遺伝子破壊株は浸透圧ストレスに対し感受性であり、ジカルボキシイミド系薬剤に対しては低度の耐性を示すことが明らかとなった。さらに光形態形成に関しては、5 分以下の近紫外光照射下での光応答性が低下したことから、*BoHog1* 遺伝子が本菌の光シグナルの伝達にも関与する可能性が示唆された。今後は、光シグナル伝達のさらに上流に位置する光受容体を明らかし、光受容からシグナル伝達の一連の反応過程を解析する必要があると考える。

引用文献

- Kihara, J., Moriwaki, A., Ito, M., Arase, S., and Honda, Y. (2004a) Pigment Cell Res. 17: 15–23.
- Kihara, J., Moriwaki, A., Matsuo, N., Arase, S. and Honda, Y. (2004b) Curr. Genet. 46: 37–46.