

ウリ類炭疽病菌の付着器侵入の分子機構に関する研究

久 保 康 之

摂南大学農学部 教授・農学博士

1. はじめに

植物の病害の多くは病原糸状菌によって引き起こされ、その被害は世界の食糧生産と農業経済に深刻な影響を及ぼしている。特に炭疽病菌 (*Colletotrichum* spp.) は、600 種を超える農作物に感染し、世界各地で果樹や野菜など重要作物の収量低下や品質劣化を招く重大な病原菌として知られている。炭疽病菌が広範な宿主範囲を有する背景には、侵入過程の多様性や高度に洗練された感染メカニズムがあると考えられ、その解明は病害防除のための極めて重要な研究課題である。

本研究では、ウリ類炭疽病菌が形成する付着器 (Appressorium) を軸に、菌がどのように植物表皮を突破し、感染を確立していくのかを分子レベルで解明することを目的とした。具体的には、付着器を介した侵入機構の解明において重要とされるメラニン合成の役割や、それに関連する細胞周期制御の実態、さらにはゲノム解析を通じた病原性遺伝子の同定を包括的に行った。本研究が目指す目的は、単に病原菌の感染メカニズムを解明するだけでなく、その知見を活かし、新たな病害防除技術の開発につなげる点にある。また、近年、注目されている環境保全や持続可能な農業といった観点からも、炭疽病菌の侵入機構を標的とした防除法は、農薬使用量の削減や耐性菌出現リスクの低減に寄与すると期待されている。

さらに、化学防除一辺倒ではない統合的な病害管理体系を確立するために、病原菌の基礎的な生物学的理解を深めることは欠かせない。病原菌の感染様式を明らかにし、植物との相互作用を解き明かすことで、環境負荷を減らしながら作物の安定生産を実現する新しいアプローチを提案できる。本研究は、こうした持続可能な農業の実現へ向けての一步となることを目指している。

2. 研究の背景と目的

炭疽病菌の感染は、付着器の形成を伴い、強固な植物細胞壁を突破する点に特長がある。付着器がどのような環境シグナルによって形成され、どのように植物表皮を破壊して侵入していくのかを分子レベルで解明することは、病害の予防と防除に直結する重要なアプローチである。ウリ類炭疽病菌をモデルとして研究を進めた結果、付着器の成熟過程においてメラニンが合成されることが強度維持に不可欠であり、グリセロールの蓄積による高い膨圧の維持に重要であることが明らかとなった。さらに、細胞周期制御の観点から、付着器の分化と侵入糸の形成は、単なる構造変化にとどまらず、細胞内シグナル伝達や代謝制御による緻密な機能的統合を必要とすることが示唆された。本研究では、以下の三つの視点を軸として、炭疽病菌の侵入機構を総合的に解明することを目的とした。

1) メラニン合成の役割と制御機構

メラニン化によって付着器がどのように強度を獲得し、高い膨圧を生成するのかを解析する。また、メラニン合成酵素群の遺伝子発現や活性調節に影響を及ぼす要因を明らかにし、付着器成熟に至る分子基盤を解き明かす。

2) 侵入器官の分化の分子遺伝学的解析

付着器形成や侵入糸伸長の過程には、細胞周期や細胞内シグナル伝達の制御が重要である。細胞分裂のタイミングやシグナル伝達下の下流で支配される代謝変動を調べ、どのように病原性が発現・制御されるのかを探索する。

3) ゲノム解析による病原性遺伝子の特定

炭疽病菌のゲノム情報を基盤として、感染の各ステージで特異的に働く病原性関連遺伝子や植物細胞壁分解酵素、分泌タンパク質を網羅的に同定し、その発現制御機構を明らかにする。

以上の知見を統合することで、感染初期のプロセスを分子レベルで理解し、新たな防除手法の開発へとつなげることが本研究の大きな目的である。

3. 研究成果とその意義

3.1 メラニン合成の生理・生化学的研究

ウリ類炭疽病菌の付着器は、感染初期には無色透明であるが、成熟過程でメラニンが蓄積すると暗褐色へと変化し、内部に高い膨圧を生成する。本研究では、メラニン合成遺伝子の変異株やメラニン合成阻害剤（トリシクラゾールなど）を利用した解析により、付着器のメラニン化が侵入能力の獲得に必須であることを実証した。メラニン合成阻害剤を処理した株では付着器が脆弱化し、植物表皮を十分に突破できないことから、メラニン合成が膨圧維持と侵入成功を支える鍵であることを明らかにした。さらに、メラニン合成経路を解明し、メラニン合成遺伝子の発現制御機構の解明や合成酵素遺伝子を破壊した変異株の解析により、メラニン合成が付着器の侵入機能に重要な役割を担っているかを明らかにした。こうしたメラニン合成の分子基盤を的確に把握することで、病原菌を直接、殺菌しなくとも、侵入過程を封じ込める新たな病害防除技術が開発できる可能性を見出した。

3.2 侵入器官の分化に関する分子遺伝学的研究

付着器の形成から植物表皮を貫通し、侵入糸が宿主組織内へ伸長していくプロセスは、菌体の形態変化だけでなく細胞内の厳密な周期制御を伴う。実際、付着器が形成される過程では細胞分裂のタイミングが細やかに調整されており、付着器形成や病原性の発現に強く結びついている。本研究では、蛍光タンパク質を用いたライブセルイメージング技術を駆使し、付着器分化中における核分裂や細胞小器官の動態を可視化する実験を行った結果、細胞周期や代謝経路が緻密に統合され、付着器と侵入菌糸の形態変化が制御されていることを確認した。また、侵入菌糸が植物の細胞壁を確実に突破するためには、細胞周期制御因子の下流で働くと推定されるステロール代謝の重要性を見出している。細胞内におけるステロールの適切な移行は、付着器から侵入菌糸を形成する貫穿孔(Pore)の形成に必要な細胞膜の極性形成に必須であることを明らかにした。こうした知見は、付着器や侵入糸の制御に関わる遺伝子群を標的とした新たな防除法を提案するうえで極めて重要である。

3.3 炭疽病菌のゲノム解析と病原性遺伝子の特定

本研究では、炭疽病菌のゲノム解析を通じ、感染サイクルの各段階で特異的に発現する遺伝子群を大規模に同定した。特に、植物細胞壁の成分（セルロース、ペクチン、ヘミセルロースなど）を分

解する酵素遺伝子や、宿主の免疫応答を回避あるいは抑制する分泌タンパク質の遺伝子については、その発現タイミングと量が病原性の強弱を決定づける重要な因子となっていることがわかってきた。これらのゲノム情報を活用することで、病原菌が宿主特異性を獲得する過程や、侵入から植物の組織内での拡大に至るまでの適応戦略をより詳細に追跡することが可能となる。また、比較ゲノム学的アプローチを通じて、近縁種との相違点や炭疽病菌特有の遺伝子群が浮かび上がり、病原菌の進化的背景を理解する手がかりにもなる。これらの基礎知見は、将来的に抵抗性作物の開発や薬剤標的分子の探索に直結し、病害防除の応用研究を大きく前進させると考えられる。

4. 研究の特徴と将来的意義

本研究の最大の特徴は、炭疽病菌の侵入メカニズムを構造的・分子的・遺伝的観点から総合的に解明し、その成果を新規防除法の開発へと展開しようとしている点にある。特に、付着器形成と膨圧の獲得を支えるメラニン合成や細胞周期制御メカニズムに着目することで、感染の初期段階を“狙い撃ち”する斬新な戦略を提案していることが大きな特色である。

こうした研究成果は、従来の化学防除だけに依存しない病害管理技術の確立や、環境負荷の少ない防除資材の開発につながる可能性を秘めている。また、付着器形成に関わる遺伝子群の機能を詳細に把握することで、高度な病害抵抗性を持つ品種の育種も視野に入れることができる。これは持続可能な農業の実現のみならず、将来的な食糧生産の安定化にも寄与しうる重要なアプローチである。今後は、各種感染プロセスを制御する具体的な分子ターゲットをさらに絞り込み、農業現場で活用可能な方法へと落とし込むことが課題となる。ゲノム情報を活用した革新的な防除法や、遺伝子組換え技術・ゲノム編集技術との連携により、従来にはなかった新しい病害管理の枠組みが構築されることが期待される。こうしたマルチディシプリナリーな研究アプローチを継続することで、病原糸状菌による農業被害を大幅に低減するとともに、地球規模で求められる食糧需要に対応するための基盤技術を確立できると考えている。さらに、直近の研究成果では付着器の精緻な侵入機能がヒトの神経系における高次な遺伝子疾患と共通する事象を見いだしており、ヒトの遺伝子疾患モデル生物としての可能性について検討を進めている。

参考文献

- (1) Bissaro, B*, Kodama, S*, Nishiuchi, T., Díaz-Rovira, A. M., Hage, H., Ribeaucourt, D., Haon, M., Grisel, S., Simaan, A. J., Beisson, F., Forget, S. M., Brumer, H., Rosso, M.-N., Guallar, V., O'Connell, R., Lafond, M., **Kubo, Y****, and Berrin, J.-G. ** (2022) Tandem metalloenzymes gate plant cell entry by pathogenic fungi *Science Advances*. 8: eade9982. *co-first; **co-correspondence
- (2) Kodama, S., Kajikawa, N., Fukada, F., and **Kubo, Y.** (2022) Niemann-pick type C proteins are required for sterol transport and appressorium-mediated plant penetration of *Colletotrichum orbiculare*. *mBio* 13: e0223622
- (3) Fukada, F., and **Kubo, Y.** (2015) *Colletotrichum orbiculare* regulates cell cycle G1/S progression via two-component GAP and GTPase to establish plant infection. *Plant Cell* 27: 2530-2544.
- (4) Gan, P., Ikeda, K., Irieda, H., Narusaka, M., O'Connell, R. J., Narusaka, Y., Takano, Y., **Kubo, Y.**, and Shirasu, K. (2013) Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. *New Phytologist* 4: 1236-1249.

- (5) O'Connell, R. J., et al. (2012), Life-style transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi defined by genome and transcriptome analyses. **Nature Genetics** 44: 1060-1065.
- (6) **Kubo, Y.**, Nakamura, H., Kobayashi, K., Okuno, T., and Furusawa, I. (1991). Cloning of a melanin biosynthetic gene essential for appressorial penetration of *Colletotrichum lagenarium*. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 4: 440-445.

<総説>

- (1) **Kubo, Y** and Takano, Y (2013). Dynamics of infection-related morphogenesis and pathogenesis in *Colletotrichum orbiculare*. **Journal of General Plant Pathology** 79: 233-242.

<著書>

- (1) **Kubo, Y.** (2013) Function of peroxisomes in plant-pathogen interactions. *In* **Peroxisomes and their Key role in Cellular Signaling and Metabolism** Luis A. del Río ed. Subcellular Biochemistry XII, Springer, pp329-345.
- (2) **Kubo, Y.** (2011) Appressorium Function in *Colletotrichum orbiculare* and Prospect for Genome Based Analysis. *In* **Morphogenesis and Pathogenicity in Fungi: Topics in Current Genetics**, Vol. 22 Pérez-Martín, José and Di Pietro, Antonio (eds.) 1st Edition., pp115-131.
- (3) Yamaguchi, I., and **Kubo, Y.** (1992) Target sites of melanin biosynthesis inhibitors. *In* **Target Sites of Fungicide Action**. Wolfram Koller ed. CRC Press, London, pp 101-118.
- (4) **Kubo, Y.**, and Furusawa, I (1991). Melanin biosynthesis: prerequisite for successful invasion of the plant host by appressoria of *Colletotrichum* and *Pyricularia*. *In* **The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals**. Garry T. Cole and Harvey C. Hoch (eds), Plenum Publishing, New York, pp 205-217.

ウリ類炭疽病菌の付着器のメラニン合成と病原性

