

# ウリ類炭疽病菌における ホメオボックス転写制御因子の機能解析

平岩(横山) 綾  
近江化学工業株式会社

## 1. はじめに

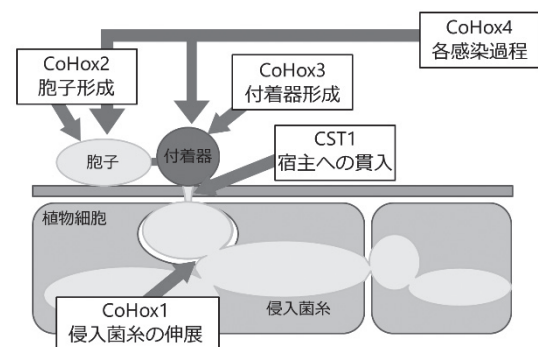
植物病原糸状菌が引き起こす植物への病害は8割以上を占めると言われており、世界各地で経済的に重大な損失を与えている。新たな病害防除法を確立するためには、植物病原糸状菌の感染メカニズムの解明が重要である。ウリ類炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*) を含む多くの植物病原糸状菌は、宿主植物に感染するために付着器と呼ばれる構造を形成し、宿主に侵入する。また、ウリ類炭疽病菌などのヘミバイオトロフィックな病原菌は、宿主への侵入初期にバイオトロフィック (共生) 状態の侵入菌糸を形成し、その後、ネクロトロフィック (殺生) 状態に移行して、宿主細胞を破壊し、感染を成立させることが知られている。特に、この侵入菌糸のバイオトロフィからネクロトロフィへの切り替えについては、近年より注目されるようになり、様々な研究が行われている。

これまで、ウリ類炭疽病菌の病原性関連遺伝子の探索のために、AtMT法を用いてウリ類炭疽病菌の野生株 104-T株から突然変異株を作出し、病原性欠損変異株を選抜してその変異遺伝子の特定を行ってきた。得られた推定病原性関連遺伝子の1つであるホメオボックス遺伝子は、ショウジョウバエの形態変異から発見された転写因子をコードする遺伝子であり、形態分化に重要な役割を持つことが知られている。また、昆虫だけでなく様々な生物が保有しており、植物病原糸状菌にも保存され、研究が行われている。しかし、植物病原菌において、ホメオボックス転写因子の病原性との関連については未解明である。

ウリ類炭疽病菌のホメオボックス遺伝子の1つである *CoHox1* 遺伝子の遺伝子破壊株を作出して表現型解析を行った。その結果、ホメオボックス転写因子 *CoHox1* は侵入菌糸の形態分化に関与していることがわかった (図1)。また、もう1つのホメオボックス遺伝子 *CoHox3* 遺伝子についても同様に遺伝子破壊株を作出して表現型解析を行った結果、ホメオボックス転写因子 *CoHox3* は付着器

形成に関与していることがわかった (図1)。また、他のホメオボックス転写因子についても解析を行っており、分生胞子の形成や発芽感染過程の様々な段階に関与していることが示唆されている (図1)。

図1. ウリ類炭疽病菌におけるホメオボックス転写因子の感染過程への関与



## 2. ウリ類炭疽病菌のホメオボックス *CoHox1* は宿主植物への侵入菌糸の 形態形成に関与する

ウリ類炭疽病菌のホメオボックスがどのような機能を持っているかを明らかにするため、*CoHox1* 遺伝子を破壊した菌株を作出し、野生株との比較による表現型解析を行った。*CoHox1* 遺伝子破壊株は、宿主葉への病原性が欠損し、加熱処理した宿主葉上でも病斑を形成しなかった (図2)。*CoHox1* 遺伝子破壊株は、ガラス面、人工セルロース膜および宿主葉上で成熟した付着器を形成し、人工セルロース膜への侵入も正常であった。一方で、*CoHox1* 遺伝子破壊株は宿主植物への侵入率が野生株よりも低下し、侵入菌糸の進展が途中で停止していた (図3)。熱処理した宿主葉を用いて、宿主の抵抗性誘導について試験を行った結果、*CoHox1* 遺伝子破壊株は病斑を形成せず、侵入菌糸の伸長停止に関与しないことがわかった。*CoHox1* 遺伝子破壊株が宿主侵入の途中で死滅しているかを調査するため、宿主へ接種して長期間の培養後を行ったが、*CoHox1* 遺伝子破壊株の生存が確認された。以上の結果、*CoHox1* はウリ類炭疽病菌の侵入菌糸の形態分化に関与し、

宿主への感染に必須であることがわかった。

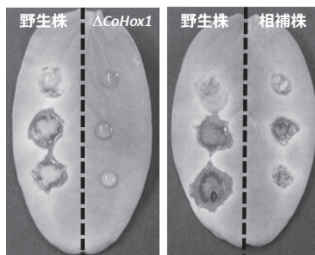


図2. *CoHox1* 遺伝子破壊株の病原性試験胞子懸濁液を接種して7日間培養した。

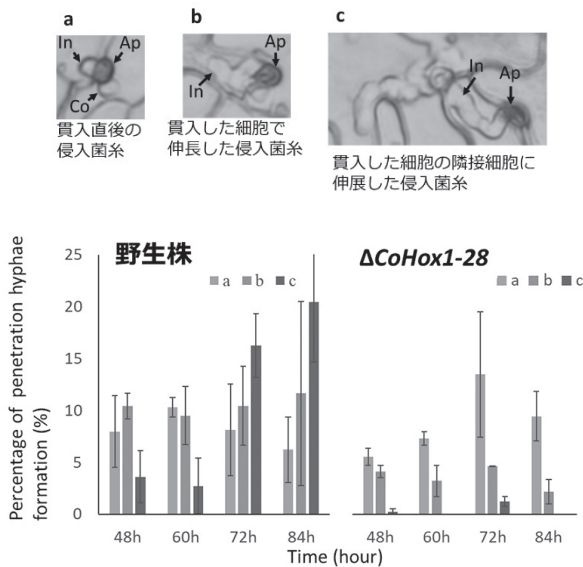


図3. *CoHox1* 遺伝子破壊株の宿主葉への侵入菌糸観察 Co : 胞子, Ap : 付着器, In : 侵入菌糸

### 3. ウリ類炭疽病菌のホメオボックス *CoHox3* は付着器形成に関与する

ウリ類炭疽病菌のホメオボックス転写因子の1つである*CoHox3*の機能解析のため、遺伝子破壊株を作成し、その表現型解析を行った。その結果、*CoHox3*遺伝子破壊株は正常な付着器を形成できず、人工膜への侵入率および宿主キュウリ葉への病原性が低下することがわかった(図4)。また、付着器で特異的に発現する遺伝子*CoGAS1*のプロモーターに*eGFP*を付加させたベクターの導入株を用いて蛍光観察をした結果、野生株では付着器形成時に*eGFP*蛍光が認められたが、*CoHox3*遺伝子破壊株では認められなかった。胞子発芽時の核の挙動については*CoHox3*遺伝子破壊株の核分裂が野生株よりも遅い結果となった(図5)。以上から、*CoHox3*はウリ類炭疽病菌の付着器形成に関与していると結論づけられる。

以上の結果に加えて、すでに報告されている CST1

(Tsuji et al. 2003) および *CoHox2*, *CoHox4* (小幡 2018) もまたウリ類炭疽病菌の感染過程に関与しており、ホメオボックス転写因子が感染に重要な因子であることがわかった。これらのことから、ホメオボックス転写因子の更なる研究がウリ類炭疽病菌の感染メカニズム解明に貢献すると期待される。

### 引用文献

Tsuji G, Fujii S, Tsuge S, Shiraishi T and Kubo Y, 2003. The *Colletotrichum lagenarium* Ste12-like gene CST1 is essential for appressorium penetration. *Molecular plant-Microbe Interactions* 16: 315-325; <https://doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.4.315>.

Yokoyama A, Izumitsu K, Sumita T, Tanaka C, Irie T, Suzuki K, 2018. Homeobox transcription factor *CoHox3* is essential for appressorium formation in the plant pathogenic fungus *Colletotrichum orbiculare*. *Mycoscience*, 59: 353-362; <https://doi.org/10.1016/j.myc.2018.02.001>.

Yokoyama A, Izumitsu K, Irie T, Suzuki K, 2019. The homeobox transcription factor *CoHox1* is required for the morphogenesis of infection hyphae in host plants and pathogenicity in *Colletotrichum orbiculare*. *Mycoscience* 60: 110-115; <https://doi.org/10.1016/j.myc.2018.11.001>.

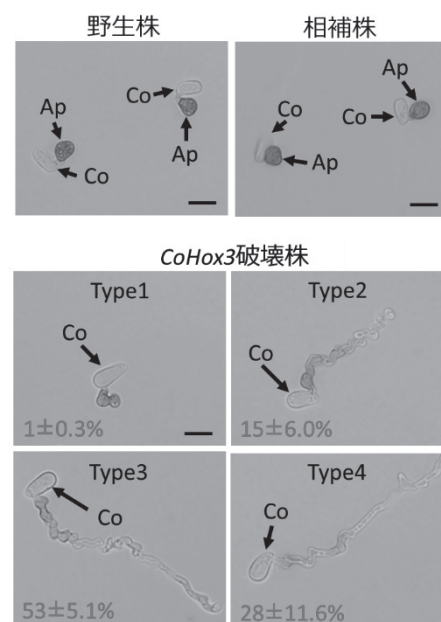


図4. *CoHox3* 遺伝子破壊株の胞子発芽胞子懸濁液を24時間培養した。図下：形成率、Co : 胞子, Ap : 付着器、バーは10 μmを示す。

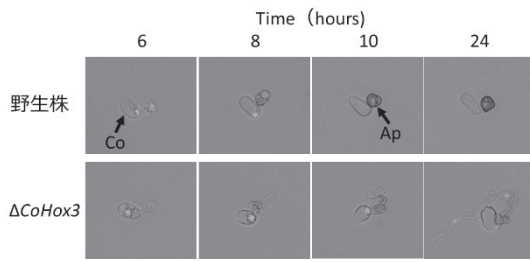


図 5. *CoHox3* 遺伝子破壊株の胞子発芽時の核の挙動  
Co : 胞子、Ap : 付着器