

植物病原菌 *Erwinia rhapontici* における Quorum Sensing 機構の比較ゲノム解析

SATテクノロジー・ショーケース2022

■ はじめに

植物病原菌 *Erwinia rhapontici* は、タマネギなどの植物に感染して軟腐症状を引き起こし、腐敗部に特徴的なピンク色の変色を引き起こす病原菌である。多くの植物病原菌は、アシル化ホモセリンラクトン(AHL)を介したQuorum Sensing(QS)により、自身の病原性発現を制御している。多くの *Erwinia* 属細菌においてAHLを介したQSの存在が明らかになっているが、*E. rhapontici* における報告例はほとんど存在しない。本研究では、農業生物資源データベースに登録されている *E. rhapontici* のAHL生産を調査するとともに、比較ゲノム解析を用いてAHL生産に関わる遺伝子の同定と病原性との関連性を調査した。

■ 活動内容

1. *E. rhapontici* の全ゲノム配列の取得

農業生物資源データベースから取得した *E. rhapontici* MAFF 311153、311154、311155の3株についてAHL生産を調べたところ、MAFF 311154のみがAHL生産を示すことが明らかとなった。この原因を調査するため、次世代シーケンサーを用いて3株の全ゲノム配列を取得したところ、全ての株で染色体と1つの内在性プラスミドで構成されていることが明らかとなった。

2. AHL合成・レセプター遺伝子の比較ゲノム解析

得られた3株のゲノム配列から、QS関連遺伝子の存在を調査したところ、MAFF 311153及び311155は染色体上に2つのAHL合成遺伝子 *eraI1*、*eraI2* を有しており、MAFF 311154は *eraI1* の部分が他の遺伝子に置き換わっていた(Fig. 1A)。また、3株が有するプラスミドの大部分の領域はほぼ共通であったが、AHLを生産するMAFF 311154株が有するプラスミドには大規模な挿入配列が存在し、その中に新たなAHL合成遺伝子 *eraI3* が存在していた。MAFF 311154のみがAHL生産を示すことから、*eraI3* のみが機能的なAHL合成遺伝子であると推察した(Fig. 1B)。

3. AHL合成遺伝子(*eraI3*)破壊株の作成

AHL合成遺伝子(*eraI3*)破壊株を作成するために、*eraI3* をPCR増幅によりクローニングし、*eraI3* 内部の制限酵素サイトにゲンタマイシン耐性遺伝子を挿入した破壊用プラスミドを作成した。破壊用プラスミドはエレクトロポレーション法によりMAFF 311154に導入し、相同性組み換えにより染色体上のAHL合成遺伝子を破壊した。作成したAHL合成遺伝子破壊株(Δ *eraI3*)のAHL生産能を確認した

ところ、 Δ *eraI3* 株はAHL生産が完全に消失することが明らかになった。MAFF 311154株と Δ *eraI3* 株をジャガイモに接種して病原性を調べたところ、AHL生産の有無に関わらず腐敗症状が見られたことから、*E. rhapontici* においてはQSと病原性発現はリンクしないことが明らかとなった(Fig. 2)。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

T. Morohoshi, K. Nameki, and N. Someya. Comparative genome analysis reveals the presence of multiple quorum-sensing systems in plant pathogenic bacterium, *Erwinia rhapontici*. Biosci. Biotech. Biochem., 85, 1910-1914, 2021.

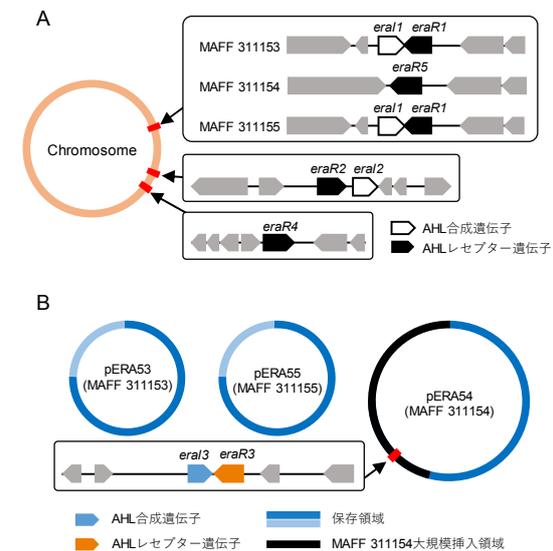


Fig. 1. *E. rhapontici* の染色体(A)及び内在性プラスミド(B)における QS 関連遺伝子の比較ゲノム解析

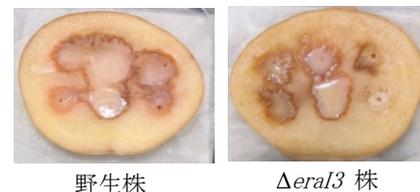


Fig. 2. MAFF 311154 野生株及び *eraI3* 破壊株によるジャガイモスライスへの腐敗活性

代表発表者 行木 花菜子(なめき かなこ)
 所属 宇都宮大学大学院 地域創生科学研究科
 工農総合科学専攻 物質環境化学プログラム
 問合せ先 〒321-8585 栃木県宇都宮市陽東 7-1-2
 TEL: 028-689-6176
 E-mail: mc206630@cc.utsunomiya-u.ac.jp

■ キーワード: (1) quorum sensing
 (2) acylhomoserine lactone
 (3) *Erwinia rhapontici*
 ■ 共同研究者: 諸星知広(宇都宮大学)
 染谷信孝(農研機構)