

植物病原菌 *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* における Quorum Sensing 機構の解析

SATテクノロジー・ショーケース2023

■ はじめに

ある種の *Burkholderia* 属細菌は、植物に対して病原性を有することが知られている。その中でも *Burkholderia gladioli* は、黄色を呈する毒素である toxoflavin を生産し、イネやタマネギ、グラジオラス等、様々な植物に病原性を示すことが報告されている。多くのグラム陰性細菌は、アシル化ホモセリンラクトン (AHL) をシグナル物質とした Quorum Sensing (QS) により、病原性に関連する様々な遺伝子の発現を制御することが報告されている。全ゲノム配列が公開されている *B. gladioli* BSR3 株は、AHL 合成遺伝子 (*glaI*) と AHL レセプター遺伝子 (*glaR*) のセットを有するが、基準株である *B. gladioli* ATCC 10248 株は、配列の異なる AHL 合成遺伝子 (*glaI2*) と AHL レセプター遺伝子 (*glaR2*) のセットを有する。農業生物資源データベースに登録されている 84 株の *B. gladioli* pv. *gladioli* の QS 制御遺伝子を調査したところ、大部分の菌株が *glaI*/*glaR* のセットのみ有していたが、MAFF 302385 株のみ *glaI*/*glaR* と *glaI2*/*glaR2* の両遺伝子セットを有していた。そこで本研究では、MAFF 302385 株の各 QS 遺伝子の単独および二重破壊株を計 6 種 (Δ *glaI*, Δ *glaI2*, Δ *glaI* Δ *glaI2*, Δ *glaR*, Δ *glaR2*, Δ *glaR* Δ *glaR2*) 作製し、各 QS 制御遺伝子と病原性発現との関連性を調査することを目的とした。

■ 活動内容

1. QS 制御遺伝子破壊株の作製および AHL 生産試験

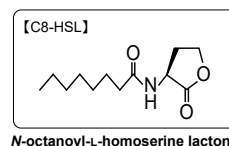
MAFF 302385 株が保持する各 QS 制御遺伝子破壊株を作製し、培養上清から AHL 生産を調べた。その結果、 Δ *glaI* 株に AHL 生産が見られなかったことから、*glaI* が機能的な AHL 合成遺伝子であると推察した。

2. toxoflavin 生産試験

各菌株の液体培地および固体培地における toxoflavin 生産を試験したところ、液体培地では *glaI* または *glaR* のどちらかの遺伝子が破壊された場合、toxoflavin 生産は見られなかった (Fig. 2A)。その一方で、固体培地においては全菌株にて toxoflavin の生産が確認され、 Δ *glaI* 株のみ過剰生産を示した (Fig. 2B)。そこで、 Δ *glaI* 株に *glaI* 遺伝子を相補した場合、過剰生産は抑制された。以上から、本菌株では *glaI*/*glaR* のセットのみ QS に関与することが示唆され、*glaI* は toxoflavin の過剰生産の抑制に関係することが明らかとなった。また、液体培地および固体培地における toxoflavin 生産に関しては、QS の制御機構が異なる可能性が示唆された。

3. グラジオラス葉片の病原性試験

各菌株の菌懸濁液を OD₆₀₀=0.5 に調製し、チップで傷をつけたグラジオラス葉片に接種することで、グラジオラスへの病原性を試験した。その結果、QS の有無に関わらず全ての菌株で同等レベルの病原性を示したため、固体培地上と同様の QS 制御機構により toxoflavin 生産が促されたと推察した (Fig. 3)。



▼ C8-HSL 生産の有無

WT	Δ I1	Δ I2	Δ I1 Δ I2	Δ R1	Δ R2	Δ R1 Δ R2
○	×	○	×	○	○	○

Fig. 1 本菌株が生産する C8-HSL の化学構造および各菌株における C8-HSL 生産の有無

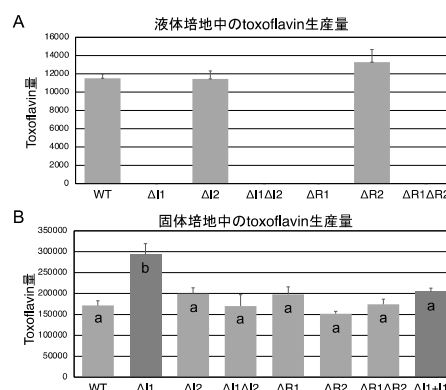


Fig. 2 液体および固体培地中における toxoflavin 生産量 (Tukey 検定, ab 異記号間に有意差あり, $p < 0.05$)

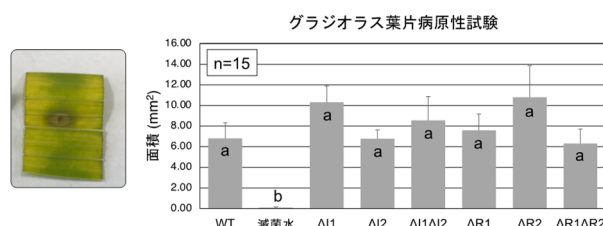


Fig. 3 グラジオラス葉片の病原性試験 (Tukey 検定, ab 異記号間に有意差あり, $p < 0.05$)

代表発表者 滝田 和己(たきた かずみ)
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 〒321-4226 栃木県芳賀郡益子町上山 640-2
TEL: 080-5962-9262
E-mail: mc216638@cc.utsunomiya-u.ac.jp

■キーワード: (1) Quorum Sensing
(2) Acylhomoserine lactone
(3) *Burkholderia gladioli*
■共同研究者: 諸星知広(宇都宮大学)
染谷信孝(農研機構)