

P - 41

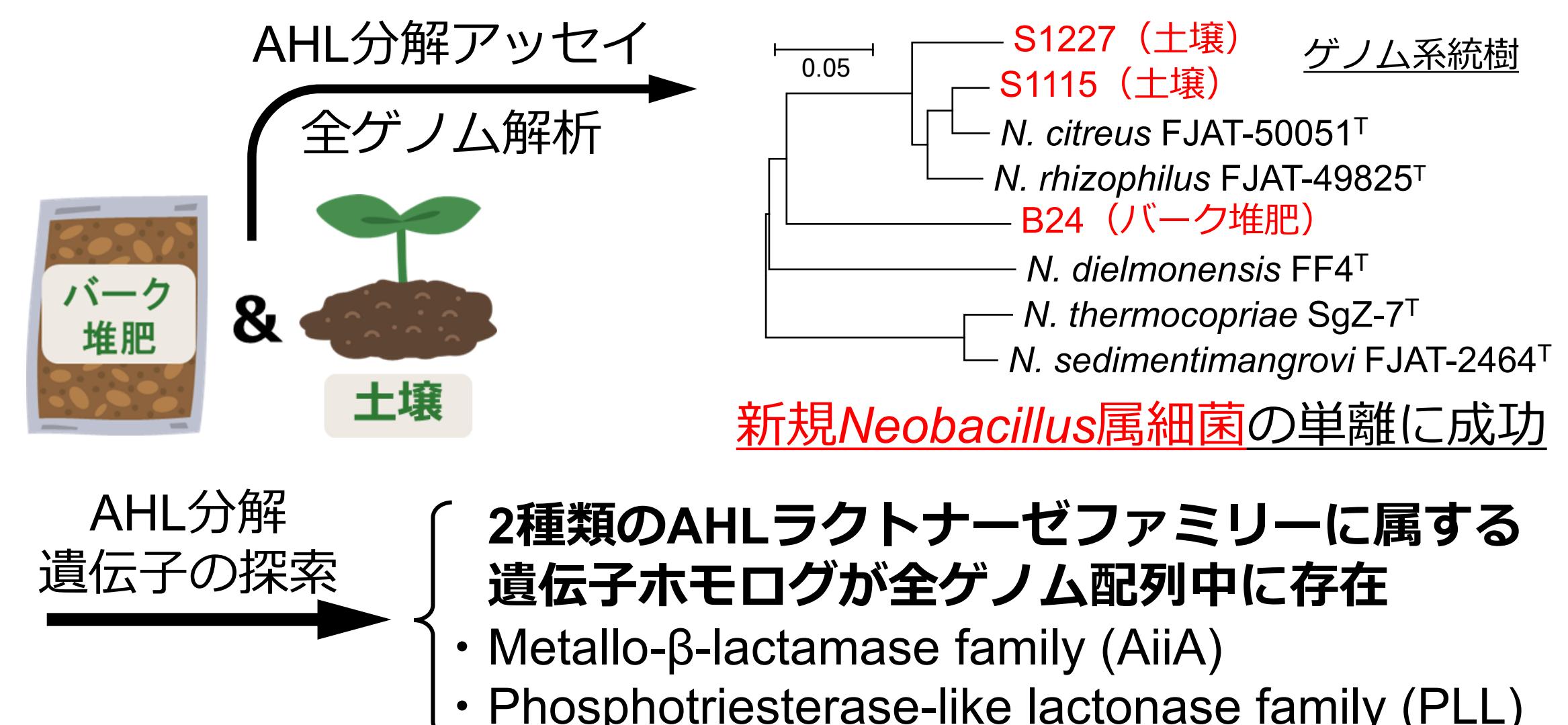
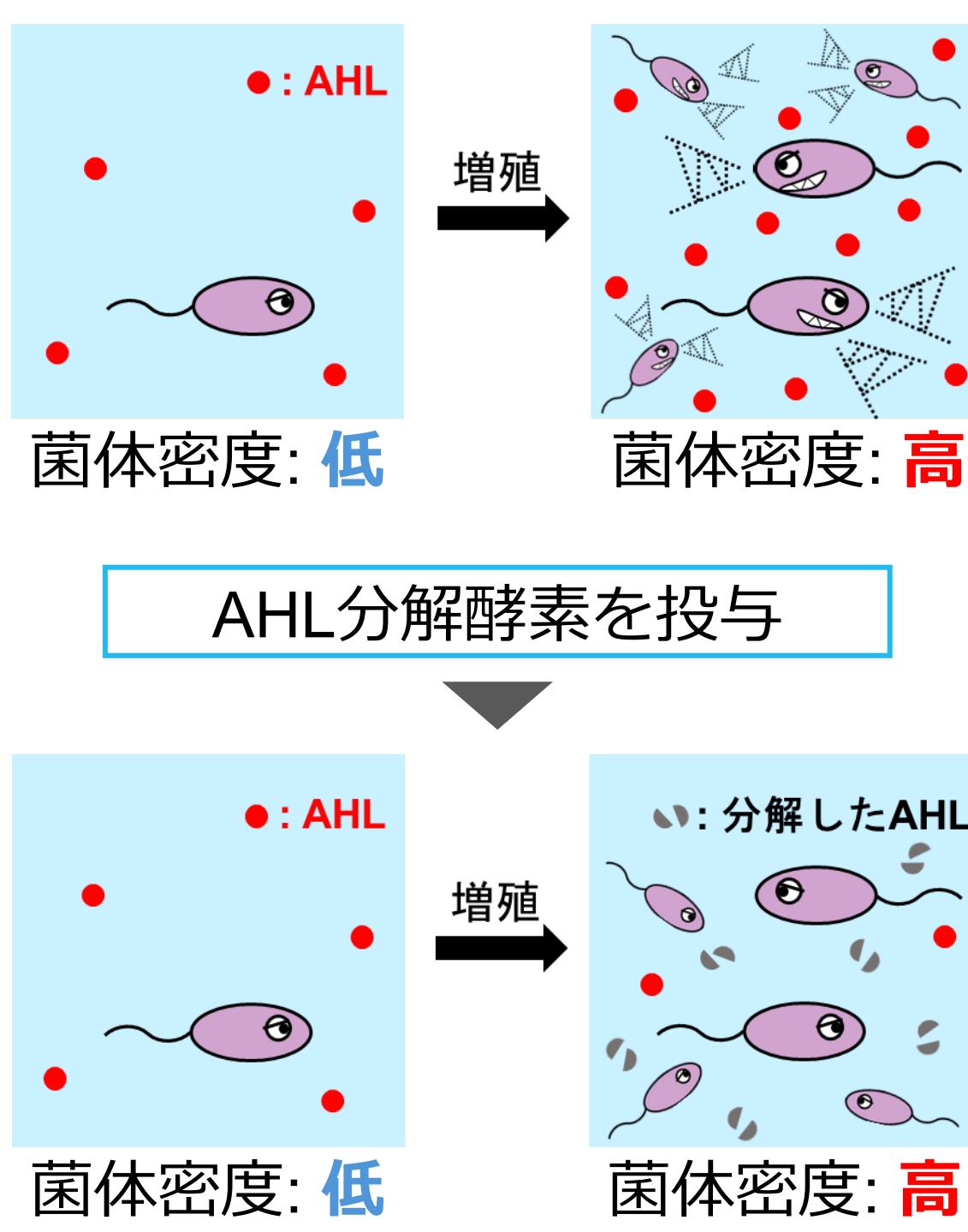
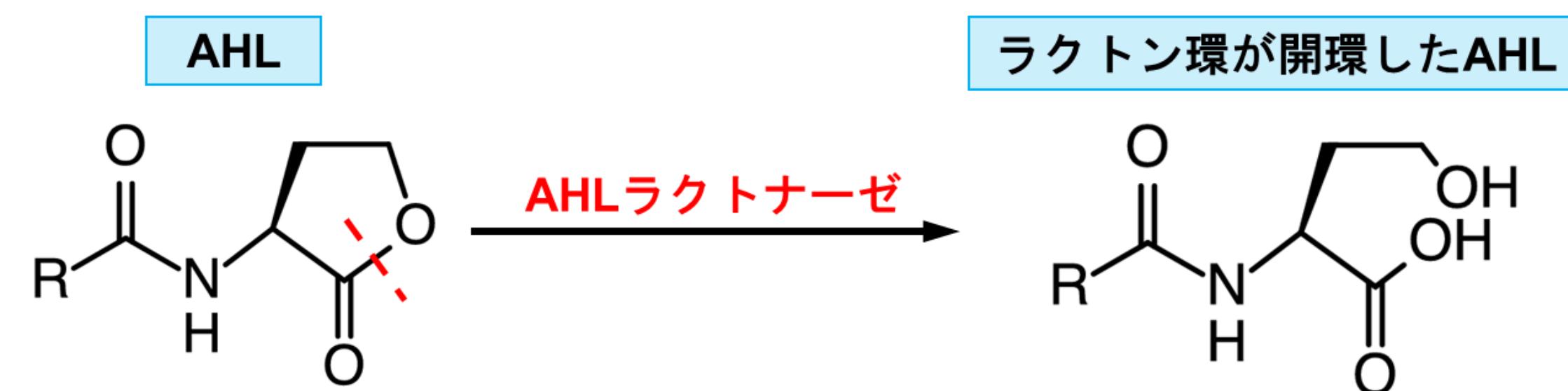
バーク堆肥及び土壤由来*Neobacillus*属細菌による新規アシル化ホモセリンラクトン分解遺伝子の機能解析

Analysis of acylated homoserine lactone degradation mechanism in bacteria belonging to the genus *Neobacillus*○伊澤 琉佳¹, 金野 尚武¹, 鈴木 智大¹, 荷方 稔之¹, 染谷 信孝², 諸星 知広¹⁽¹⁾宇都宮大学大学院地域創生科学研究科, ⁽²⁾農研機構・植物防疫研究部門)

Introduction

クオラムセンシング (QS) とは、細胞密度上昇を認識し、遺伝子発現を制御する細胞間コミュニケーションであり、多くのグラム陰性病原細菌は、**アシル化ホモセリンラクトン (AHL)** を介したQSにより病原性因子を制御している。

AHL分解酵素により植物病原細菌が産生するAHLを分解することでQSを阻害し、**病原性発現の活性化を抑制し病害を予防**することが可能。



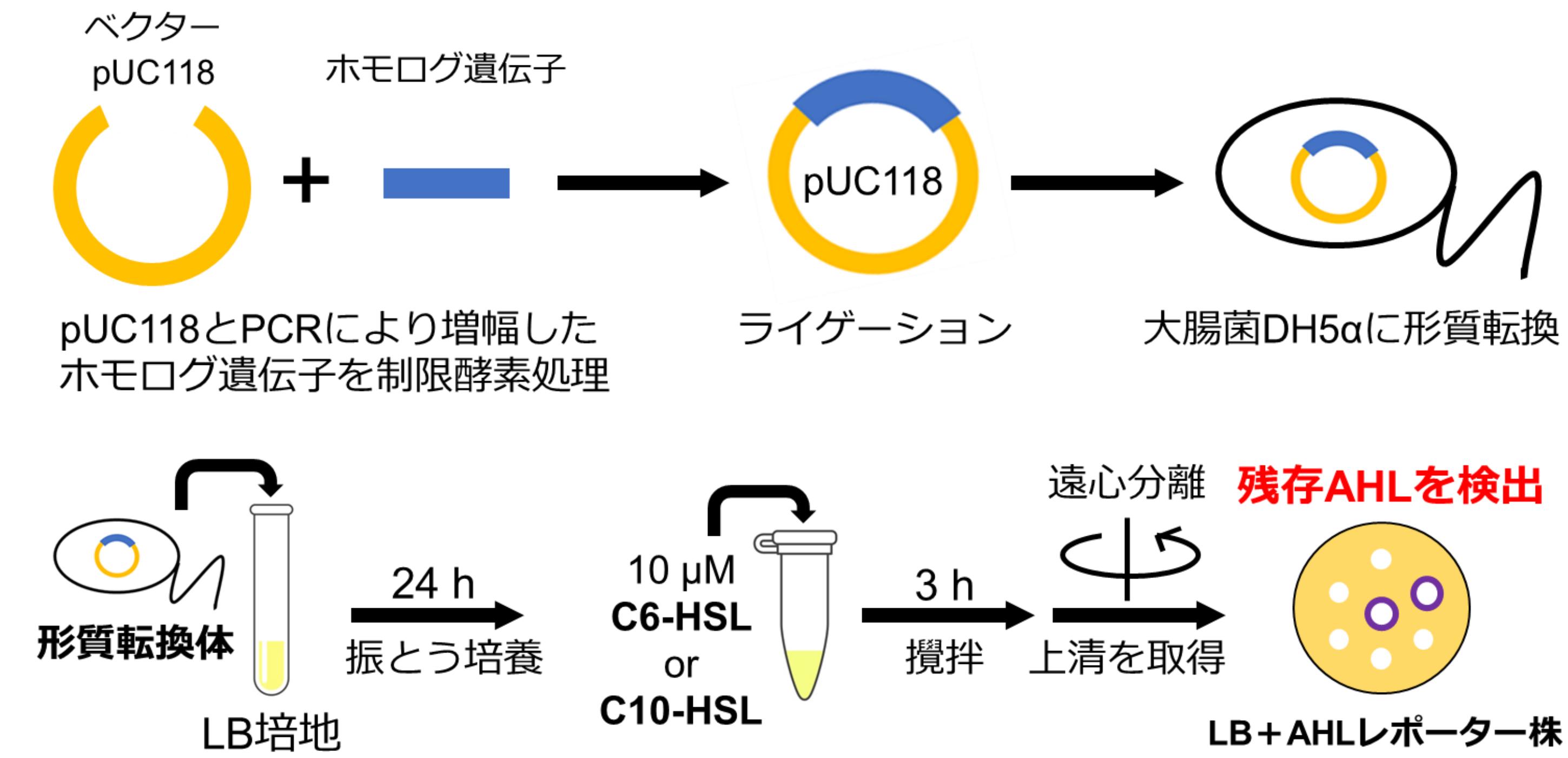
【研究目的】AHL分解活性を有する新規*Neobacillus*属細菌が有するAHL分解酵素の機能解析を行い、植物病原細菌に対するQS阻害効果を検証する。

Methods & Results

① *Neobacillus* sp.が有するAHL分解遺伝子ホモログによるAHL分解活性
ドラフトゲノム解析によって明らかとなったAHLラクトナーゼホモログをクローニングし、AHL分解アッセイを行った。

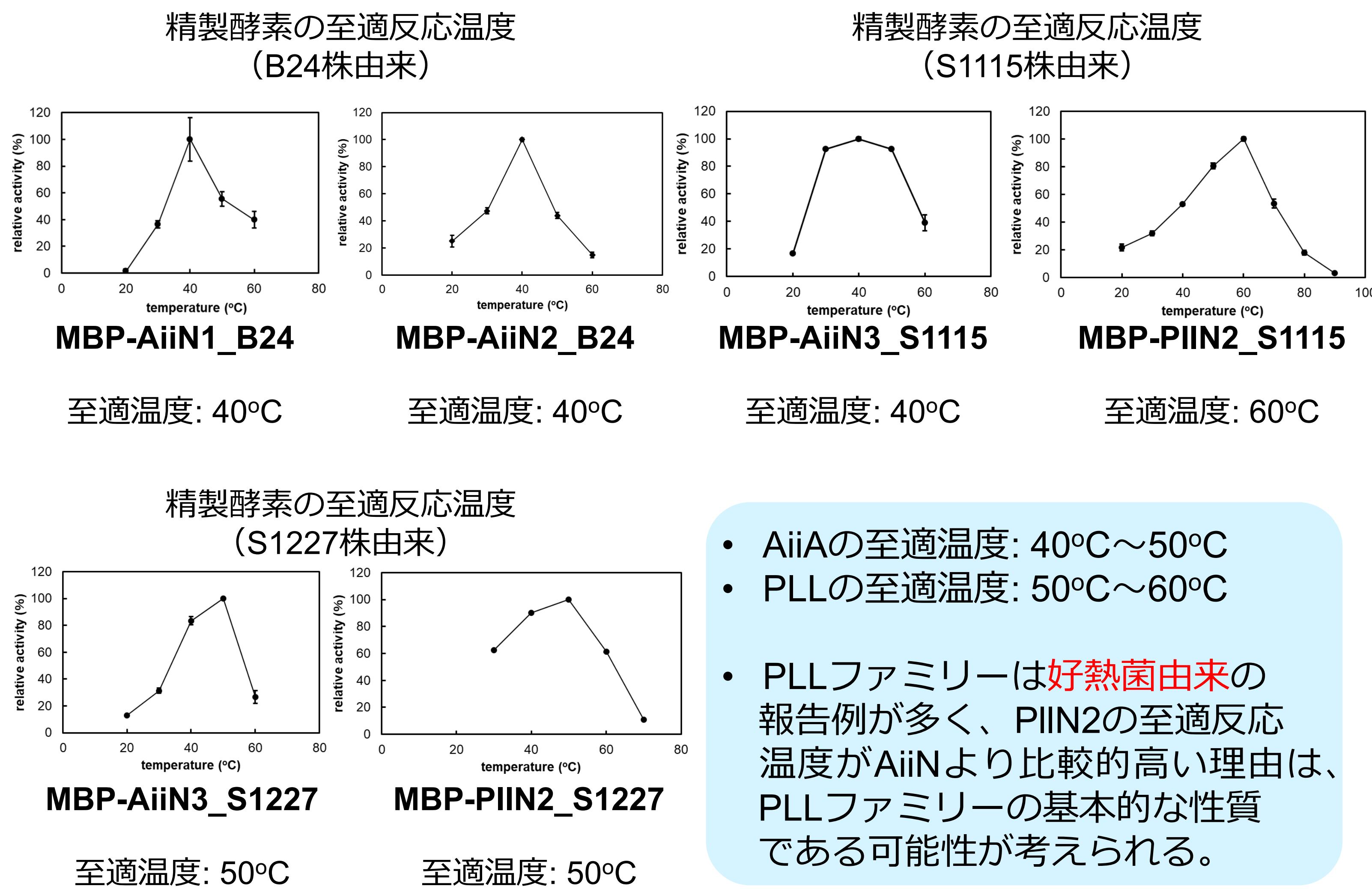
AHL分解アッセイ

形質転換体とAHLを共培養し、AHLレポーター株混合培地で残存AHLを検出

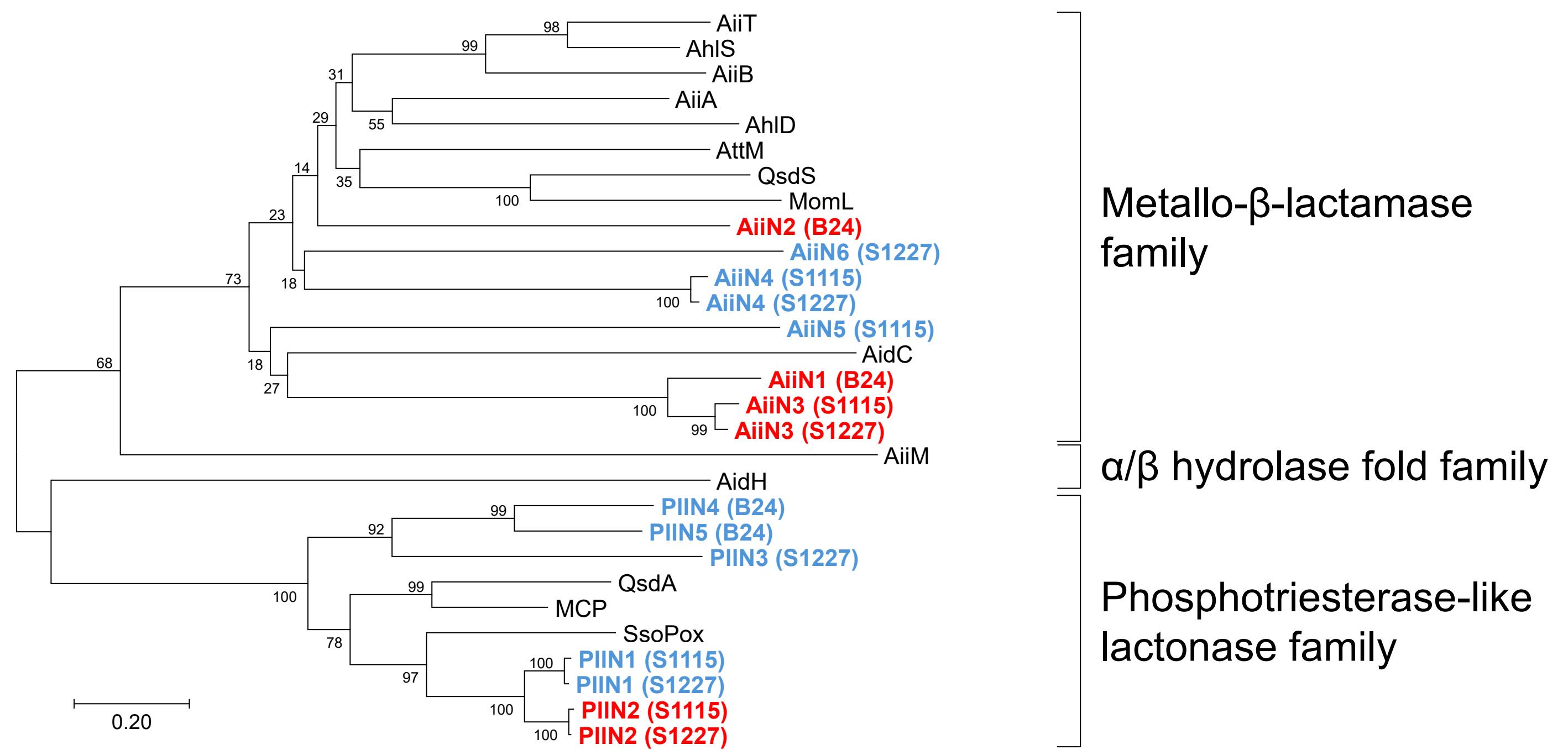


② AiiN, PIINの精製及びAHL分解至適温度の解析

AHL分解活性を示したAiiN, PIINをマルトース結合タンパク質 (MBP) 融合タンパク質として発現及び精製を行い、酵素の至適反応温度を調査した。



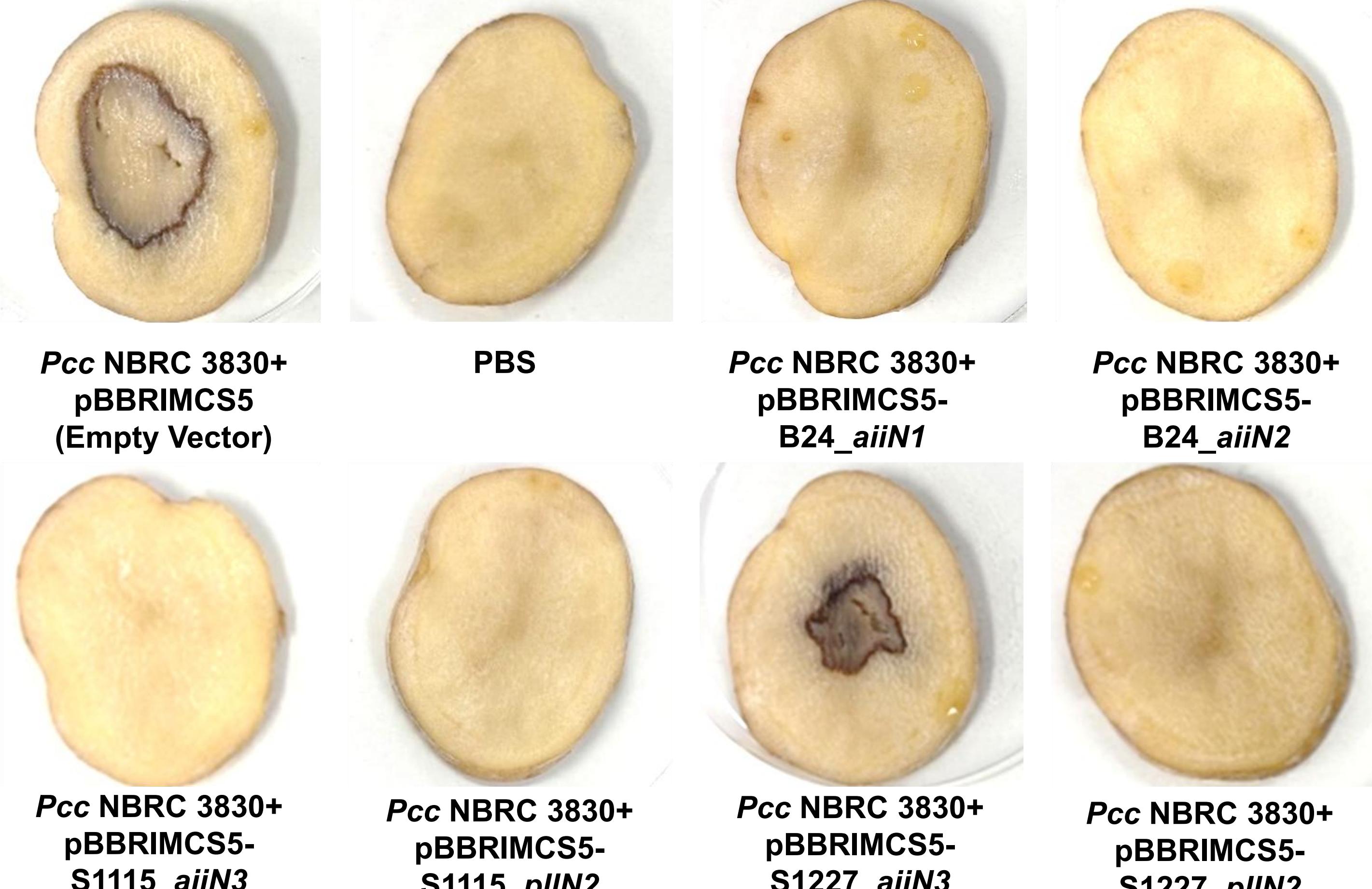
Neobacillus sp. 3株のドラフトゲノムから明らかになったAHLラクトナーゼ遺伝子ホモログの系統分類及びAHL分解活性の評価



赤字: AHL分解活性を示したホモログ 青字: AHL分解活性を示さないホモログ 黒字: 既知のAHL分解酵素
各菌株が2つのAHL分解遺伝子を有していた。
→ *Bacillus*属においてPLLに属するAHL分解酵素の報告は本研究が初めて

③ AHLラクトナーゼ発現 *Pectobacterium carotovorum*による病原性阻害

AHL分解活性を示した *aaiN*, *piin* 導入 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* NBRC 3830をジャガイモスライスに接種し、病原性阻害を調査した。



ほぼ全ての *aaiN*, *piin* 導入 *Pcc* NBRC 3830はペクチナーゼ発現を抑制した。

Summary & Future prospect

まとめ

- バーク堆肥及び土壤から単離された3株の*Neobacillus* sp. (B24株、S1115株、S1227株) はAHLラクトナーゼ (AiiAとPLL) を産生することが明らかとなった。
- PLLファミリーに属するAHLラクトナーゼは、PLLの基本的な性質と同様にAiiAよりも比較的高い至適反応温度を示した。
- 植物病原細菌 (*Pectobacterium carotovorum*) にAHLラクトナーゼ遺伝子を導入することにより、ペクチナーゼ発現が抑制可能であることが明らかとなった。

今後の展望

- 各菌株においてAHLラクトナーゼ遺伝子のmRNA発現レベルを定量し、酵素の「量」と「質」の両面からAHL分解能を総合的に解析する。