

イネいもち病菌株における非病原性遺伝子 *AVR-Pia* 遺伝子座の解析

共生基盤学専攻 生物共生科学講座 植物圏微生物学分野
大塚 圭輔

【背景及び目的】

いもち病は、糸状菌の一種であるイネいもち病菌がイネに感染することで引き起こされる。その感染の際、イネいもち病菌の持つ非病原性遺伝子 (*AVR gene*) と、その遺伝子に対応する抵抗性遺伝子 (*R gene*) との間で遺伝子対遺伝子説が成立している。イネとイネいもち病菌の宿主特異性相互作用の解析と、宿主特異性変異の機構を解析するため、病原性判別イネ品種愛知旭の持つ真性抵抗性遺伝子 *Pi-a* に対するイネいもち病菌の非病原性遺伝子 *AVR-Pia* が日本産菌株 Ina168 株からクローニングされた。本遺伝子はイネ品種愛知旭に非病原性を示す菌株に保存されているが、病原性を示す菌株には存在しない。*AVR-Pia* は全長 255-bp, そのうち 19 アミノ酸がシグナルペプチドであると考えられている。本研究では、イネに感染するイネいもち病菌に止まらず、様々なイネいもち病菌株を利用して、そのゲノム DNA を抽出し、*AVR-Pia* とその周辺領域に関する詳細な分析を行った。

【方法及び結果】

(1) コピー数の解析

AVR-Pia の各菌株におけるコピー数の解析を行った。愛知旭に非病原性を示す各菌株のゲノムDNAを *HindIII* で消化しサザン解析したところ、全ての日本産標準菌株では6.5-kbに、中国産菌株Y93-165g-1株では約14-kbに1本のシグナルが現れた。これにより、日本産菌株と中国産菌株では*AVR-Pia* の周辺領域が異なることが示唆された。さらに、Ina168株とY93-165g-1株のDNAを*AVR-Pia* を内部1箇所切断する*EcoRI* で消化し、*EcoRI* 認識配列の両側のDNA断片を別々にプローブとしてサザン解析したところ、Ina168株では3コピー、Y93-165g-1株では1コピーの*AVR-Pia* がゲノム上に存在すると考えられた。同様に、その他の日本産標準菌株に加え、イネ以外を宿主とするいもち病菌株のゲノムDNAを解析したところ、1-3コピーの*AVR-Pia* を持つことが示唆された。また、Ina168株の染色体をPFGEで分離し、サザン解析を行ったところ、最長の染色体のみにハイブリダイズしたことから、3コピーの*AVR-Pia* は全て同一の染色体上に存在していることが分かった。

(2) *AVR-Pia* 遺伝子座における周辺配列の解析

AVR-Pia 領域を含むコスミドクローンの塩基配列情報より、周辺領域には*Occan*, *Pot2*, *Pot3* のDNA型トランスポゾン、レトロトランスポゾンMGL, レトロトランスポゾン*Pyret*, MGLR-3, RETRO6, RETRO7のsolo-LTRがクラスターを形成していることが分かった。また、Ina168株とIna168 m95-1株 (宿主特異性変異株, *avr-Pia*) の塩基配列の違いを調べたところ、DNA型トランスポゾン*Occan* の3'末端近接領域から3コピーの*AVR-Pia* を含む領域が、Ina168 m95-1株では大きく欠損していることが分かった。これにより、その境界領域に存在するトランスポゾン*Occan* が*AVR-Pia* の欠損に大きく関与している可能性が示唆された。