

イネいもち病菌の非病原性 タンパク質 AVR-Pia の相互作用の解析

共生基盤学専攻 生物共生科学講座 植物圏微生物学 樋口 裕也

1. はじめに

イネいもち病はイネの最重要病害であり, その防除に抵抗性品種が使用されている。抵抗性反応は, 病原菌の AVR 遺伝子産物を宿主の R 遺伝子産物が認識することによって起こるとされているが, その詳細は未だわかっていない。AVR 遺伝子の 1 つである *AVR-Pia* の遺伝子産物は, 分泌型のタンパク質と推定されている。*AVR-Pia* の相互作用を Yeast two hybrid 法により解析すると, シグナル配列を除いた *AVR-Pia* 同士に強い相互作用がみられ, 多量体化すると推測した。*AVR-Pia* の多量体化の宿主 R 遺伝子との相互作用における重要性を明らかにするため, 本研究では多量体化に必要なアミノ酸領域を明らかにし, 別のアミノ酸へ置換したイネいもち病菌の変異体を作成してイネへの接種試験を行うことで, *AVR-Pia* の多量体化がイネの抵抗性反応に与える影響を試験した。

2. 方法

各々のタンパク質間の相互作用の確認には Yeast two hybrid 法を用いた。また, イネへの接種試験は葉鞘裏面接種法を用いて接種後 48 時間で観察を行った。

3. 結果と考察

Yeast two hybrid 法による相互作用の確認の結果, *AVR-Pia* のシグナル配列を除いた N 末端から 38 番目のフェニルアラニンと 40 番目のバリンの両方をアラニンへと置換した, 2 アミノ酸置換体が最も *AVR-Pia* 同士の相互作用を弱くすることが判明した。また, *AVR-Pia* は, これに対応した宿主の R 遺伝子である *Pia* を構成する遺伝子の 1 つの RGA5-A の C 末端部分と相互作用することが Cesari ら (2013) によって既に報告されており, この RGA5-A の C 末端部分と作成した 2 アミノ酸置換体との相互作用の有無の確認を試験したところ, 野生型の *AVR-Pia* と RGA5 との場合と同等の相互作用があると分かった。従って, *AVR-Pia* の多量体化を弱めた 2 アミノ酸置換体でも宿主の R 遺伝子産物と結合できると示唆された。しかし, この *AVR-Pia* の 2 アミノ酸置換体遺伝子を *AVR-Pia* を持たないイネいもち病菌変異株に形質転換し, *Pia* を持つイネ品種に接種試験を行ったところ, 接種後 48 時間において *AVR-Pia* を持つイネいもち病菌野生株とは異なる症状を示すことが分かった。イネいもち病菌野生株では抵抗性反応が起こり, それ以上感染が出来なくなっているのに対し, 2 アミノ酸置換体を持つイネいもち病菌変異株では同時刻においても感染が止まっていないことが分かった。以上のことから, この *AVR-Pia* の 2 アミノ酸置換体は *Pia* に認識されるものの, 接種後 48 時間において抵抗性反応を受けていないことが分かった。そこで, イネ由来の *AVR-Pia* をターゲットとする 2 つのタンパク質の相互作用を試験したところ, 野生型の *AVR-Pia* が両者と相互作用するのに対し, 2 アミノ酸置換体では相互作用が低下もしくは完全になくなることが分かった。以上から, *AVR-Pia* の多量体化は *Pia* による認識には影響を与えないが, *AVR-Pia* をターゲットとするタンパク質との相互作用がなくなることから, *Pia* による *AVR-Pia* の認識後の抵抗性反応の誘導に関わっている可能性が示唆された。