

イネいもち病菌由来非病原性タンパク質 AVR-Pia の多量体化に関する研究

共生基盤学専攻 生物共生科学 植物圏微生物学 藤原志帆

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。イネいもち病菌の AVR 遺伝子の 1 つである AVR-Pia はイネの R 遺伝子 Pia に対応しており, その遺伝子産物は, Pia 遺伝子産物の 1 つである RGA5-A の C 末端部分と相互作用することが知られている。Yeast two hybrid 解析により AVR-Pia は多量体化すると推測され, さらに, 2 アミノ酸置換体 (AVR-Pia^{F38AV40A}) が AVR-Pia 同士の相互作用を弱くすることが判明した。本研究では AVR-Pia の多量体形成が非病原性タンパク質としての機能に影響を与えるのかを明らかにすることを目的としている。

2. 方法

AVR-Pia^{F38AV40A} を発現する組換えいもち病菌を作成し, イネへの接種試験を行った。さらに AVR-Pia^{F38AV40A}::GFP を発現するいもち病菌をイネに接種し, 感染細胞の RT-PCR 解析や蛍光観察を行うことで AVR-Pia^{F38AV40A} の分泌が AVR-Pia と同様に行われているかを調べた。一方 Yeast two hybrid 解析で確認された AVR-Pia の多量体形成がタンパク質そのものの性質によるものであるのかを確かめるために NMR 法による AVR-Pia の立体構造解析や大腸菌を用いた AVR-Pia^{F38AV40A} の発現・精製を試みた。

3. 結果と考察

イネへの接種試験では, AVR-Pia^{F38AV40A} を発現するいもち病菌は AVR-Pia を欠損した宿主特異性変異株と同様に愛知旭 (Pia) に対しても感染が見られ, AVR-Pia の非病原性タンパク質としての機能がアミノ酸置換によって弱まっていると考えられた。そこで, GFP の蛍光観察を行い, いもち病菌からの AVR-Pia^{F38AV40A} の分泌の確認を試みた。しかし, AVR-Pia::GFP を発現するいもち病菌の接種で確認された BIC への GFP の局在は観察できなかった。そのため, AVR-Pia^{F38AV40A}::GFP を発現するいもち病菌をタマネギの鱗茎葉の表皮に接種したのから RNA 抽出を行い, RT-PCR を行ったところ, AVR-Pia^{F38AV40A}::GFP の発現を確認することが出来た。また, AVR-Pia と AVR-Pia^{F38AV40A} の発現・精製に成功した。両者のゲルろ過クロマトグラフィーの溶出パターンに差が生じていたため, 2 アミノ酸置換によって AVR-Pia の性質に変化がもたらされたのではないかと考えられる。また, NMR 法による立体構造解析の結果 AVR-Pia が 6 本の逆平行 β ストランドからなる β サンドイッチ構造を形成していることが明らかとなった。