

包括的制御因子 *LaeA* のイネいもち病菌における役割

共生基盤学専攻 生物共生科学講座 植物圏微生物学 荒井 淳

1. 緒言

LaeA は糸状菌に特有、かつ広く保存されており、発達、分化、二次代謝、病原性など広範囲の生理的特性を包括的に制御する因子として働くことが知られている。現在のところ、染色体メチルトランスフェラーゼ活性を有し、ヘテロクロマチンとして転写が抑制されている遺伝子群を活性化するという仮説が提唱されているが、確証を得るには至っていない。本研究では、稲作における最重要病害であるいもち病を引き起こすイネいもち病菌における *laeA* オルソログ遺伝子の同定とその機能解析を行った。

2. 方法

Aspergillus fumigatus の *laeA* の塩基配列を基に、いもち病菌 *Magnaporthe grisea* のゲノムでホモロジー検索を行ったところ、*MGG08161*, *MGG07964* の2遺伝子がヒットした。これらの遺伝子上流、及び下流から外側に向けて500 ~ 2000 bp程度の相同配列を持つインサート配列を作成し、発現用プラスミド pBARST へと組み込んだ。

MGG08161 欠損変異株を作成するために、発現用ベクターをプロトプラスト-PEG法を用いて親株 Ina86-137Δ*lig4* へと形質転換した。スクリーニングによって得られた形質転換体からゲノムDNAを抽出し、*MGG08161*を増幅するPCR、及び*MGG08161*内に特異的なプローブを用いたサザンハイブリダイゼーションにより、遺伝子欠損を確認した。

得られた遺伝子欠損株の表現型を評価するため、寒天平板培地での培養、及び孢子懸濁液の作成を行い、菌糸の成長、分生子形成数、付着器形成率を算出した。また、タマネギの表皮に感染させたサンプルからRNAを抽出し、二次代謝や分生子の形成などに関連する7種の遺伝子の転写解析を行った。

3. 結果と考察

親株に比べて変異株 Ina86-137Δ*lig4*-Δ*08161* は菌糸の成長が抑制されたものの、分生子形成及び付着器形成率が親株に比べて有意に上昇していた。一方、分生子の形成に関連する2種の遺伝子の転写は抑制されていた。また、二次代謝関連酵素である *TASI* の転写も、変異株では抑制されていた。以上の結果から、*MGG08161* はいもち病菌の発達や分化、二次代謝を包括的に、転写レベルで制御していることが示唆された。

4. 結論

laeA のオルソログとして *MGG07964*, *MGG08161* をいもち病菌ゲノムより特定し、*MGG08161* の欠損変異株の作成に成功した。表現型の評価及び遺伝子転写解析を行い、親株との比較を行ったところ、変異株は分生子の形成及び付着器の形成が促進され、また二次代謝関連遺伝子の1つの転写が抑制されていたことから、いもち病菌の発達、分化、二次代謝などを包括的に制御する機能を有することが示唆された。