

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 生物共生科学講座 植物圏微生物学 竹石桜子

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のイネへの接種試験を行うことで AVR-Pia の多量体形成が非病原性タンパク質に与える影響について調べた。さらに感染時におけるいもち病菌によって分泌される野生型 AVR-Pia と AVR-Pia^{F38AV40A} との比較を行うために、野生型 AVR-Pia を発現するいもち病菌 (Ina168) と組み換え体 AVR-Pia^{F38AV40A} を発現するいもち病菌 (Ina168 m95-1+Vq AVR-Pia +SP sb38 and 40) を接種したイネからのタンパク抽出・抗 AVR-Pia 抗体を用いた免疫沈降、ウエスタンブロッティングを行った。さらに、タマネギの鱗茎葉の表皮にいもち病菌を接種し、RNA 抽出を行い、RT-PCR 解析を行うことで AVR-Pia^{F38AV40A} 遺伝子の転写が AVR-Pia と同様に行われているかを調べた。

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。また感染時においてイネ細胞に分泌される AVR-Pia と AVR-Pia^{F38AV40A} の違いを比較するために野生型・組み換え型いもち病菌を接種したイネ両方から抽出したタンパク質からは、AVR タンパク質を検出することが出来なかった。そこで、AVR 遺伝子の発現を調べるために、両菌をタマネギの鱗茎葉の表皮に接種し、抽出した RNA を用いて、RT-PCR を行ったところ、野生型 AVR-Pia の発現は確認出来たが、AVR-Pia^{F38AV40A} の発現は確認することが出来なかった。このことから、2 アミノ酸置換により、AVR-Pia^{F38AV40A} の発現量が低下したことが非病原性タンパク質としての機能喪失の原因である可能性が考えられた。