

細胞壁キシラン分解物によるイネいもち病感染応答機構

木村 郷子 (筑波大学 生物学類)

指導教員：古川 純 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

植物は常に多くの植物病原菌にさらされている。植物病原菌と宿主植物との最初の攻防は細胞壁で行われる。植物に防御反応を誘導する物質を総称してエリシターと呼ぶが、本研究ではエリシターの中でも細胞壁分解物に注目した。

病原菌は細胞壁分解酵素を送りこみ、植物細胞壁を分解する。このとき発生する細胞壁分解物のうち、植物細胞に感知され防御反応を引き起こすものがある。

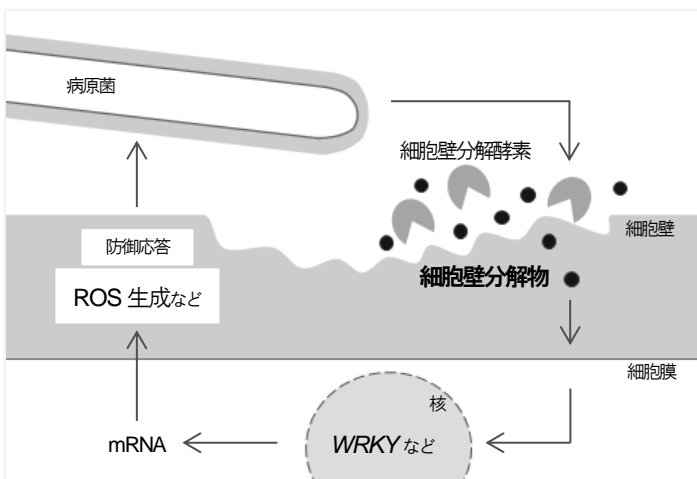


図. エリシターによる防御応答モデル図
エリシター活性を持つ細胞壁分解物が防御応答を引き起こす

現在エリシター活性を持つ細胞壁分解物として病原菌由来のキシロオリゴ糖などがよく知られている。しかし宿主植物の細胞壁分解物がエリシターとして働く例はオリゴガラクトン酸しか報告がないのが現状である。現在までに植物の防御応答に関して様々な解析が行われてきたが、植物内でのプログラムについての研究がほとんどであり、細胞壁はあまり重視されてこなかった。そのため細胞壁空間についての植物の病害抵抗性についての知見は、ここ 30 年大きな進歩がなされてきていない。しかし細胞壁は植物が生育する上で様々な働きを持ち、病原菌からの影響を最初に受ける組織でもあり、病害抵抗性についても重要な働きを持っていると考えられる。

これまでの研究において、イネ由来のアラビノキシラン分解酵素であるアラビノフラノシダーゼ (*OsARAF*) をユビキチンプロモーターにより恒常的に高発現させたイネ (*OsARAF⁺FOX*) ではいもち病抵抗性が向上していた。いもち病はイネがいネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*) に感染することで起こり、現在も罹病で収量が大幅に低下している。

ARAF⁺FOX では細胞壁キシラン分解物であるキシロオリゴ糖が発生増加し、病害抵抗性を付与していると予想した。新規エリシターの発見を目的とし、キシロオリゴ糖のエリシター活性を評価した。

【材料】

Yamada *et al.* (1993) の方法に従い、イネ (*Oryza sativa* 品種：Nipponbare) の培養細胞を用いた。

【方法】

植え継ぎ後、培養 4、5 日目のイネ培養細胞を約 40 mg 量り取り、培地 1 mL に懸濁した。これをサーモミキサー (eppendorf) で 25°C、750 rpm で 30 分間プレインキュベートし、その後 DW、キシロオリゴ糖八量体 (終濃度 0.4 mg/mL)、キシロオリゴ糖八量体 (終濃度 1.6 ng/mL)、オリゴガラクトン酸 (終濃度 0.4 mg/mL) で処理を行った。処理直前および処理後、経時的に 10 μ L ずつ 96 穴マイクロタイタープレートにサンプリングし、ルミノメーター (Applied Biosystems: TR717, Berthold: Centro LB 960) にて生成した活性酸素を発光量として測定した。測定プロトコルを以下に示す。

- ①1.1 mM ルミノール溶液 50 μ L を添加
- ②2 秒放置
- ③14 mM フェリシアン化カリウム溶液 100 μ L を添加
- ④10 秒間発光量測定

【結果】

イネ培養細胞にキシラン分解物であるキシロオリゴ糖と既知のエリシターをそれぞれ添加し、ROS 生成量を経時的に測定した。キシロオリゴ糖によって誘導された ROS の生成量は処理後 120 分でオリゴガラクトン酸の約 2 倍であった。この結果からキシロオリゴ糖にはエリシター活性があることが示唆された。さらにはキシロオリゴ糖により誘導された ROS の生成量がオリゴガラクトン酸より多かったことから、既知のエリシターであるオリゴガラクトン酸よりもエリシター活性が高い可能性が考えられる。

【考察と今後の展望】

双子葉植物と比較して、イネの一次細胞壁中にはペクチンが少なくキシランが多い。イネのような単子葉植物では、ペクチン分解物であるオリゴガラクトン酸ではなく、キシラン分解物であるキシロオリゴ糖が主要なエリシターとして活用されているかもしれない。

現在までに細胞壁に注目して病害抵抗性を研究した例は少なく、今回、キシロオリゴ糖が新規エリシターである可能性を示したことは大きな一歩であると考えている。

今後はキシロオリゴ糖により *WRKY* などの抵抗性遺伝子の発現が誘導されていることを確認する。また *ARAF⁺FOX* の細胞壁中でキシロオリゴ糖が増加しているか検証する。また、キシラン主鎖を直接分解する *Xylosidase-FOX* についても、今後、解析を進める予定である。