

イネ-いもち病害応答におけるペクチンオリゴ糖誘導性抵抗反応機構の解明

豊田 一希 (筑波大学 生物学類)

指導教員：岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

【 導入 】

植物の環境応答には多様なものが存在するが、その中でも病害応答機構の理解は植物の資源利用効率に大きく貢献するものと考えられている。現在までに植物の病害応答に関して様々な抵抗性遺伝子についての解析が行われてきたが、その多くは細胞内プログラムについての研究であり、細胞外つまり細胞壁空間についての植物の病害抵抗性の知見は、ここ 30 年ほど大きな進歩がなされていないのが現状である。

細胞壁は発生発達に重要であるが、特にペクチンは細胞接着性や、その分解物によるストレス応答にも関わっている。双子葉植物と比較して、イネなどの単子葉植物では葉の細胞壁中の約 5% 程度しかペクチンが含まれず、単子葉植物におけるペクチンの機能については知見が乏しい。ペクチンを分解する酵素として、ポリガラクトナーゼ(PG)が知られており、PG によりペクチンが分解されるとオリゴガラクトン酸(OGA)が生じることがわかっている。また、病原体の侵入時に病原体は細胞内に侵入するために PG を分泌し、ペクチンを分解することが知られている(図 1 参照)。病原体侵入時に病害応答を引き起こす物質のことをエリシターといい、エリシターには MAMPs と DAMPs の二種類が存在している。MAMPs は病原菌由来の物質であり、DAMPs は植物由来の物質である。ペクチン分解物である OGA はシロイヌナズナなどの双子葉植物においてエリシターの一つであると判明しているが、単子葉植物では OGA の役割は明らかになっていない。そこで本研究では単子葉植物の細胞壁由来のオリゴ糖による病害応答メカニズムの解明を目的に、OGA のイネにおける働きについて調査した。

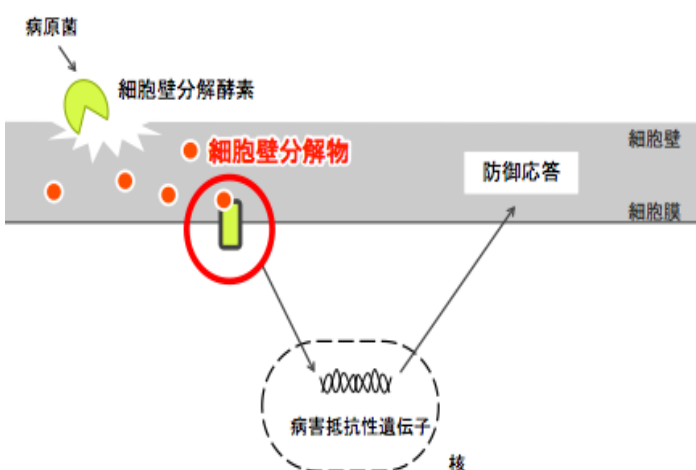


図 1 病原菌侵入時の細胞壁分解物による抵抗反応モデル

【 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 】

イネの培養細胞を用いた発現解析

キチンとキシロオリゴ糖、そして OGA を添加した、イネの培養細胞の cDNA を用いて qRT-PCR を行った。qRT-PCR は cDNA 溶液 2 μ L と TBGreen II 10 μ L、PrimerF 及び PrimerR 各 0.8 μ L、ROX 0.4 μ L、dH₂O 6 μ L を混合し、以下の反応条件で行った。

反応条件

1cycle	95°C	30 秒
40cycle	95°C	5 秒
	60°C	31 秒
Dissociation stage		

Real-Time-PCR は Applied biosystems 7500 Real-time PCR System を用いて行った。

【 結果 】

共同研究者の農研機構の南栄一博士により作成された、いもち病害に対して感受性のイネと親和性のイネの、病斑周辺細胞を用いたレーザーマイクロディセクションアレイによる網羅解析データベースがある。それを用いて、両者のイネで発現が変化していた WAK(Cell Wall-associated kinase)および cell wall sensor を解析したところ、9 種類の WAK 遺伝子で発現量に変化があった。それらの WAK に対して発現解析を行った結果、OGA を添加した培養細胞の、どの WAK の遺伝子も発現量の上昇は確認されなかった。

PAMPs として知られている 3 種類の WAK についても発現解析を行った。その結果、OGA を添加した培養細胞において 1 種類の WAK の発現量は大きく上昇していた。

また、cell wall sensor として知られている遺伝子の FERONIA、HERACLES についても発現解析を行ったが、それらの遺伝子の発現量は OGA を添加しても大きな変化は見られなかった。

【 考察と今後の展望 】

実験の結果から 1 種類の WAK が OGA を添加した際に特徴的に発現することが半明した。また、この OGA は病害応答の際にキチンオリゴ糖(PAMP)やキシロオリゴ糖(DAMP)とは異なる機序で働く可能性が示唆された。

今後の展望としては OGA 添加時に特徴的な発現を見せた WAK の欠損変異体由来の培養細胞に OGA を添加した際の病抵抗性遺伝子発現の調査や、未解析の *OsWAK* の発現量変化を調査することで、より病害応答の際の OGA の働きについて理解できると期待している。