

キシロシダーゼ過剰発現イネの器官別の細胞壁組成と病害応答の変化

渡辺 大智 (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)

【背景・目的】

植物細胞は細胞壁という構造を持ち、細胞壁は動物や昆虫による食害ストレスや病原菌による病害ストレス、活性酸素や乾燥による環境ストレスに対して様々な応答を示している。細胞壁はセルロース、ヘミセルロース、ペクチンの3つの主成分から構成されている。キシランはイネの主要なヘミセルロースの主成分であり、 β 1-4 結合したキシロースの主鎖に対し、アラビノースやグルクロン酸などの側鎖が結合したヘテロ糖であり、天然条件ではアラビノキシランやグルクルクロノキシランとして存在している。 β -キシロシダーゼはキシランを加水分解する酵素である。植物体内での細胞壁構成多糖や、糖タンパク質、脂質の代謝に関わっているほか、イネの代表的な病気の原因の病原菌であるいもち病菌が細胞壁を分解し、植物体内に侵入する際にも用いられている。イネがいもち病に感染した際のスコアは5段階あり、低いスコアでは感染部位には褐斑が多く見られるが、スコアが高くなるにつれ感染部位の白斑の数が増加する。第4,5葉期の β -キシロシダーゼを過剰発現するように改変されたイネ(xylosidase-FOX)とWTのイネにおいて、葉と葉鞘でいもち病に対する応答を比較が行われた。その結果、葉ではxylosidase-FOXの方がWTよりも白斑の数が多く、病気のスコアが高かったため病害抵抗性が低下していた。一方、茎を含む葉鞘では、病害抵抗性が向上していた。xylosidase-FOXの葉と葉鞘で病害応答性が異なることから、それぞれの細胞壁の構造にも変化があるのではないかと考えられる。一般的に植物の病原抵抗性に影響を与えるのはセルロースの量だと言われるため、本研究ではWTのイネとキシロシダーゼを過剰発現させたイネの第4,5葉期での葉と葉鞘での細胞壁成分を解析し、セルロース量、またキシランを構成する単糖の量を比較することで、細胞壁組成の変化による病害抵抗性との関係を明らかにすることを目的に実験を行なった。

【材料・方法】

研究材料には、イネ(*Oryza sativa*)のWT、キシロシダーゼ過剰発現体であるxylosidase-FOXを用いた。

1. イネのサンプリング・細胞壁分画

WT(品種:日本晴)、キシロシダーゼ過剰発現イネ Xylosidase-FOXの種子を3日間吸水させた後、土耕栽培によって18日間栽培した。WTとXylosidase-FOXそれぞれ生育の良いものを選び、葉と葉鞘に分けて1cm切片にサンプリングした、サンプリングしたWTとXylosidase-FOXそれぞれの葉と葉鞘から細胞壁を抽出し、結晶性セルロースを多く含むTFA不溶画分(結晶性セルロース画分)と、ヘミセルロースおよびペクチンを多く含むTFA可溶画分(細胞壁マトリックス画分)に分画した。

2. 細胞壁構成糖の分析

ガスクロマトグラフィー、カルバゾール硫酸法、アンスロン硫酸法を用いてWTとXylosidase-FOXの葉と葉鞘におけるTFA可溶画分の構成糖の定量を行った。また、TFA不溶画分の重量を測定することで、細胞壁中のセルロースの量を比較した。

【結果・考察】

xylosidase-FOXとWTでのセルロース量の測定

xylosidase-FOXとWTでのTFA不溶画分の重量について、葉ではWTの方がxylosidase-FOXよりもTFA不溶画分の重量は大きかったが、葉鞘ではxylosidase-FOXの方がWTよりもTFA不溶画分の重量が大きかった。そのため、葉ではセルロースが減少していたが、葉鞘ではセルロースが増加していることが示唆された。

xylosidase-FOXとWTでのヘミセルロース量の測定

現在実験中であるため、詳細な解析結果は発表会にて報告する。

Xylosidase-FOXとWTの葉と葉鞘でのTFA不要画分の重量測定の結果によって、Xylosidase-FOXの葉でのセルロース量の減少および葉鞘でのセルロース量の増加する傾向が観察されたことから、セルロースの存在量が、病害応答性に大きな影響を与える可能性が示唆された。