

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分  
平成30年3月13日現在

イネ-いもち病相互作用の分子機構の解明

Towards understanding molecular interactions of rice  
and the blast fungus *Magnaporthe oryzae*

課題番号：15H05779

寺内 良平 (Terauchi Ryohei)

京都大学・大学院農学研究科・教授



研究の概要

イネ-いもち病菌相互作用の分子機構を解明する。イネ抵抗性タンパク質といもち病菌エフェクターの組み合わせの内、PiaとAVR-Pia、PiiとAVR-Pii、PikとAVR-Pikの3種類のタンパク質分子間相互作用を解析し、これらのエフェクターが標的としているイネタンパク質との関係を明らかにし、エフェクター/標的因子/抵抗性タンパク質の遺伝子間共進化を解明する。

研究分野：植物病理学、植物遺伝学

キーワード：イネ、いもち病、抵抗性、エフェクター、共進化

1. 研究開始当初の背景

イネいもち病は、子嚢菌イネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*) によるイネの最重要病害である。いもち病防除は、抵抗性品種の育種と利用が最も効果的である。いもち病菌は、イネに侵入する際に、エフェクターと呼ばれる多種類のタンパク質を分泌して、イネの抵抗性反応や代謝をかく乱することにより、感染効率を上げると考えられている。いもち病菌エフェクターの一部は、イネ NBS-LRR (Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat) 型の細胞内受容体タンパク質 (NLR) に認識されて、強い抵抗性を導く。NLR によって認識される病原菌エフェクターを、非病原力エフェクター (AVR) と呼ぶ。研究代表者らは、いもち病菌全ゲノムの連関解析により、3種類の AVR 遺伝子、AVR-Pia、AVR-Pii、AVR-Pik の単離同定に成功した。さらにこれらの AVR を認識するイネ抵抗性タンパク質遺伝子 (NLR gene)、Pia、Pii の単離同定にも成功した。3種類の NLR-gene は、各々強く連鎖した一対の受容体タンパク質 (NLR) の遺伝子 (Paired R-gene) から構成されることも判明している。

2. 研究の目的

本課題では、同定された3種類のいもち病菌エフェクターの構造と機能、エフェクターとイネ抵抗性タンパク質の相互作用を分子レベルで解明し、イネのいもち病菌抵抗性育種

に寄与することを目指す。

3. 研究の方法

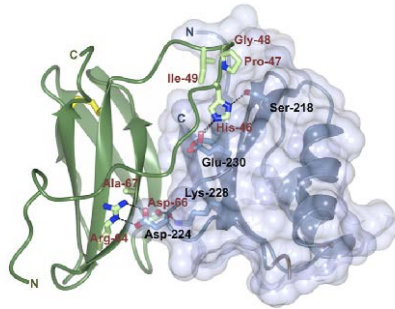
単離した3種類のいもち病菌エフェクター AVR-Pia、AVR-Pii、AVR-Pik と対応するイネ NLR の相互作用を分子生物学的に明らかにする。さらにこれらの AVR が作用するイネの標的因子を同定して、エフェクターの病原性機能を明らかにする。対になって働く NLR の機能解明を実施する。さらにいもち病菌およびイネのゲノム解析から、未同定のいもち病菌エフェクターの単離同定、エフェクターの作用するイネ標的因子の同定と機能解明を実施する。

4. これまでの成果

いもち病菌エフェクター AVR-Pik はイネの small Heavy Metal Associated domain-containing proteins (sHMAs) に結合することが示された。sHMA は活性酸素種の制御に関わっている可能性が高く AVR-Pik の標的分子であると考えられる。イネ NLR の Pik を構成する Pik-1 タンパク質には、この HMA ドメイン (Pik-1-HMA) が存在し、AVR-Pik が Pik-1-HMA に結合すると強い抵抗性が誘導される。これは、Pik-1 の進化過程で AVR-Pik の標的因子の HMA ドメインが Pik-1 タンパク質に取り込まれ、AVR-Pik に結合して認識する bait として機能するようになったと考えられる。NLR に取り込まれて病原菌エフェクター認識の機能をもつような宿主標的因子のドメインを Integrated domain

(ID)と呼ぶ。現在までに、AVR-Pik と Pik-HMA ドメインの結合結晶構造が明らかになっている (Maqbool, Saitoh et al. 2015, eLife 図 1)。

図 1. いもち病菌エフェクター AVR-Pik(緑色)とイネ



Pik-1 の HMA ドメインの結合結晶構造 (Maqbool, Saitoh et al. eLife 2017)。

本研究では、Pik-1 と AVR-Pik の異なる対立遺伝子産物の結合結晶構造の詳細な解析から、結合強度が抵抗性誘導の強さを決定していること、*Pik-1* と *AVR-Pik* は、相互の分子の結合と結合回避の自然選択により arms race 様の共進化を続けていることが示唆された。

さらに本研究では、*Pii* による *AVR-Pii* 認識機構の解明も進めた。*Pii-1* に存在する Integrated domain の NOI ドメインは、AVR-Pii に直接結合せず、イネ因子 OsExo70-F3 に結合すること、OsExo70-F3 は AVR-Pii に結合することが明らかになった (Fujisaki et al. 2015, 2017)。これらの発見から、*Pii* が宿主因子 OsExo70-F3 を介して AVR-Pii を認識する機構が推定される。Integrated domain が病原菌エフェクターでなく、宿主因子に結合してこれを guard しているとする新規モデルを提唱した (図 2)。

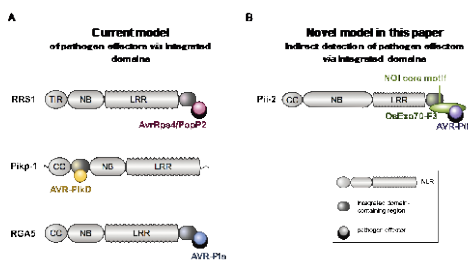


図 2. NLR の Integrated domain が病原菌エフェクターに直接結合する場合 (左) と植物の因子に結合し、それを介してエフェクターを認識する場合 (右)。Pii/AVR-Pii は後者 (Fujisaki et al. 2018, bioRxiv)。

また、本研究では、イネ大規模交配集団を活用して、新規のNLRと対応するいもち病菌AVR単離同定にも成功した。

## 5. 今後の計画

研究対象としている 3 種類の抵抗性遺伝子 *Pia*、*Pii*、*Pik* は、全て 2 つの対の NLR が必要である。今後特に、*Pii-1* と *Pii-2* の相互作用、*Pik-1* と *Pik-2* の相互作用に注目して、その機能について分子生物学的に解明する。いもち病感染に必要なイネ遺伝子は罹病性遺伝子 (Susceptibility gene: *S*-gene) と定義される。イネ大規模交配集団を用いて *S*-gene 単離を進め、その機能を解明する。

## 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

Terauchi, R., Kanzaki, H., Fujisaki, K., (9 名省略), Saitoh, H. (2016) Whole genome sequencing approaches to understand *Magnaporthe-ricae* interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 95 DOI: 10.1016/j.pmpp.2016.03.007

Bialas, A., Zess, E., (17 名省略), Fujisaki, K., Saitoh, H., Terauchi, R., Banfield, M., Kamoun, S. (2017) Lessons in effector and NLR biology of plant-microbe systems. *MPMI* DOI:10.1094/MPMI-08-17-0196-FI

Fujisaki, K. Abe, Y., Kanzaki, E., Utsushi, E., Saitoh, E., Bialas, A., Banfield, M., Kamoun, S., Terauchi, R. (2017) An unconventional NOI/RIN4 domain of a rice NLR protein binds host EXO70 protein to confer fungal immunity. *bioRxiv* DOI: <https://doi.org/10.1101/23940>