

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580064

研究課題名(和文)植物におけるイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性：侵入・伸展抵抗性の分子基盤の解明

研究課題名(英文)Molecular basis of non-host resistance to *Magnaporthe oryzae* in plants

## 研究代表者

石川 敦司 (ISHIKAWA, Atsushi)

福井県立大学・生物資源学部・教授

研究者番号：70264687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性は、細胞死を伴わないで侵入を阻止する侵入抵抗性と、細胞死を伴い侵入菌糸の伸展を阻止する伸展抵抗性の2つに分けられる。本研究では、侵入抵抗性を制御する因子として、MPK6を新たに同定した。また、伸展抵抗性を制御する因子として、AGB1、PMR5、MLO2、MPK6、および AtRbohFを新たに同定した。さらに、イネいもち病菌の感染を促進するイネPi21は、pen2 NahG pmr5 mlo2 変異体において、イネいもち病菌の被侵入表皮細胞から隣接葉肉細胞への伸展を促進することを見出した。

研究成果の概要(英文)：Non-host resistance (NHR) to *Magnaporthe oryzae* has two successive multicomponent defense layers: penetration and post-penetration resistance in *Arabidopsis thaliana*. In this study, we showed that MPK6 functions in penetration resistance to *M. oryzae* in *A. thaliana*. We also showed that AGB1, PMR5, MLO2, MPK6 and AtRbohF function in post-penetration resistance in *A. thaliana*. Furthermore, we found that rice Pi21 enhances movement of infection hyphae from penetrated *A. thaliana* epidermal cells to adjacent mesophyll cells.

研究分野：農学 生産環境農学 植物保護科学

キーワード：非宿主抵抗性 イネいもち病菌 シロイヌナズナ

## 1. 研究開始当初の背景

植物の病原菌に対する非宿主抵抗性は、強度かつ安定な抵抗性であるが、ポリジーンに支配された複雑な抵抗性であるため、その分子機構の解明は困難であると考えられてきた。しかしシロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究により、非宿主抵抗性を制御する重要な遺伝子が少しずつ発見され始めていた。

申請者は、シロイヌナズナはイネいもち病菌に対して非宿主抵抗性を示すことを見出した。またシロイヌナズナの *pen*(*penetration*)2 変異体においては、イネいもち病菌は侵入するが、植物細胞中に封じ込められ侵入菌系の伸展を停止することを明らかにした。この結果から、シロイヌナズナは PEN2 (ミロシナーゼ) 依存性の侵入抵抗性と PEN2 非依存性の伸展抵抗性の2つの抵抗性を発現していることが明らかとなった。さらに AGB1 (三量体 G タンパク質βサブユニット) と PMR5 (機能不明) が侵入抵抗性を正に制御していることも明らかにした (Maeda, Ishikawa et al. Molecular Plant-Microbe Interactions 2009)。次に申請者は、シロイヌナズナの R 遺伝子情報伝達経路に關与する RAR1 および SGT1 のイネいもち病菌に対する侵入・伸展抵抗性における機能を解析し、RAR1 と SGT1 は非宿主抵抗性に關与しないことを明らかにした (Maeda, Ishikawa et al. Plant Signaling & Behavior 2010)。以上のわれわれの結果から、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性は、細胞死を伴わないで侵入を阻止する侵入抵抗性と、細胞死を伴い侵入菌系の伸展を阻止する伸展抵抗性の2つに分けられ、複数の因子により制御されていることが示唆された (Maeda, Ishikawa et al. Molecular Plant-Microbe Interactions 2009, Plant Signaling & Behavior 2010)。そこで申請者は、植物のイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性 (侵入・伸展抵抗性) を制御する遺伝子の同定と機能解析および制御遺伝子間ネットワーク機構の解析を行い、重要な制御因子を明らかにするとともに非宿主抵抗性の全体像を理解することを試みた。

## 2. 研究の目的

### (1) 侵入抵抗性を制御する遺伝子の同定

シロイヌナズナにおいては、PEN2、AGB1、および PMR5 がイネいもち病菌に対する侵入抵抗性を正に制御していることが明らかとなったが、侵入抵抗性の全体像は未解明のままである。本研究では、侵入抵抗性を制御する新たな因子の解析を通して侵入抵抗性の制御機構を明らかにする。

### (2) 伸展抵抗性を制御する遺伝子の同定

シロイヌナズナにおいては、PEN2、AGB1、および PMR5 がイネいもち病菌に対する侵入抵抗性を正に制御していることが明らかとなったが、伸展抵抗性を制御する因子に関しては未解明のままである。本研究では、伸展抵抗性を制御する新たな因子の解析を通して伸展抵抗性の制御機構を明らかにする。

### (3) 非宿主抵抗性制御因子の遺伝学的位置づけ

シロイヌナズナにおいては、PEN2、AGB1、および PMR5 がイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性を正に制御していることが明らかとなったが、制御遺伝子間ネットワークに関しては未解明のままである。本研究では、*pen2* 多重変異体を用いた遺伝学的解析を通して、制御遺伝子間ネットワークを明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 侵入抵抗性を制御する遺伝子の同定

侵入抵抗性を制御する新たな因子を同定するために、既存の抵抗性関連突然変異体について、イネいもち病菌に対する侵入抵抗性を解析する。また、*pen2* 二重変異体を作製し、それらにおけるイネいもち病菌に対する侵入抵抗性を解析する。

### (2) 伸展抵抗性を制御する遺伝子の同定

伸展抵抗性を制御する新たな因子を同定するために、上記で作製した *pen2* 多重変異体におけるイネいもち病菌に対する伸展抵抗性を解析する。

### (3) 非宿主抵抗性制御因子の遺伝学的位置づけ

非宿主抵抗性 (侵入抵抗性・伸展抵抗性) の制御遺伝子間ネットワークを理解するために、上記で作製した *pen2* 多重変異体におけるイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性 (侵入抵抗性・伸展抵抗性) を解析し、制御因子の遺伝学的位置づけを行う。

## 4. 研究成果

### (1) 侵入抵抗性を制御する遺伝子の同定

シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する侵入抵抗性を制御する因子として、MPK6 (MAP キナーゼ) を新たに同定した (Okawa and Ishikawa, Biosci. Biotechnol. Biochem., 2013)。

### (2) 伸展抵抗性を制御する遺伝子の同定

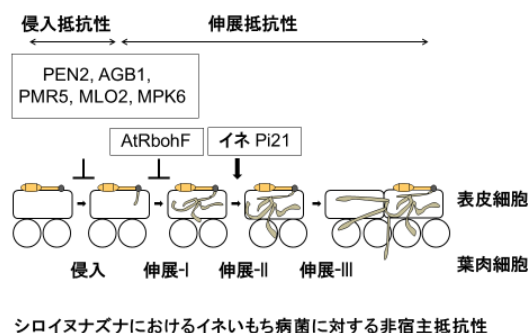
シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する伸展抵抗性を制御する因子として、AGB1 (三量体 G タンパク質βサブユニット)、PMR5 (機能不明)、ML02 (膜タンパク質)、MPK6 (MAP

キナーゼ)、および AtRbohF (NADPH 酸化酵素) を新たに同定した(Nakao, Ishikawa et al., Scientific Reports, 2011; Okawa and Ishikawa, Biosci. Biotechnol. Biochem., 2013; Nozaki, Ishikawa et al. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2013)。さらに、シロイヌナズナ *pen2 NahG pmr5 mlo2* 変異体は侵入抵抗性を欠損しイネと同等の被侵入率を示すが、イネいもち病菌の隣接細胞への伸展を阻止すること、ならびにイネいもち病菌の感染を促進するイネ *Pi21* 遺伝子を導入した上記変異体では、イネいもち病菌の被侵入表皮細胞から隣接葉肉細胞への伸展は促進されるが、隣接表皮細胞への伸展は影響を受けないことを見出した(Nakao, Ishikawa et al., Scientific Reports, 2011)。

### (3) 非宿主抵抗性制御因子の遺伝学的位置づけ

*pen2* 多重変異体 (*pen2 NahG pmr5 mlo2* 変異体、*pen2 NahG pmr5 agb1* 変異体、*pen2 NahG pmr5 agb1 mlo2* 変異体) におけるイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性 (侵入抵抗性・伸展抵抗性) を解析した結果、PEN2、PMR5、AGB1、および MLO2 は、侵入抵抗性と伸展抵抗性において正の制御因子として機能しているが、これらの因子が機能する遺伝学的ネットワークは互いに異なることを明らかにした (Okawa, Ishikawa et al. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2013)。

以上のわれわれの結果から、シロイヌナズナにおけるイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性は、侵入抵抗性と伸展抵抗性に分けられ、後者はさらに侵入菌糸の3つの伸展過程：被侵入細胞における成長 (伸展-I)、隣接葉肉細胞への伸展 (伸展-II)、および隣接表皮細胞への伸展 (伸展-III) に対する抵抗性に分けられることが明らかになった (下図)。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

1. Chiharu Okawa, Misato Nakao, and Atsushi Ishikawa, Penetration and Post-Penetration Resistance to *Magnaporthe oryzae* in Arabidopsis, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 1776-1778, 2013, 査読有  
DOI:10.1271/bbb.130213
2. Misa Nozaki, Kaori Kita, Takahiro Kodaira, and Atsushi Ishikawa, AtRbohF contributes to non-host resistance to *Magnaporthe oryzae* in Arabidopsis, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 1323-1325, 2013, 査読有  
DOI:10.1271/bbb.130092
3. Chiharu Okawa and Atsushi Ishikawa, MPK6 contributes to non-host resistance to *Magnaporthe oryzae* in *Arabidopsis thaliana*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 1320-1322, 2013, 査読有  
DOI:10.1271/bbb.130082
4. Misato Nakao, Ryotaro Nakamura, Kaori Kita, Ryuya Inukai, and Atsushi Ishikawa, Non-host resistance to penetration and hyphal growth of *Magnaporthe oryzae* in Arabidopsis, Scientific Reports, 1, 171, 2011, 査読有  
DOI:10.1038/srep00171

[学会発表](計4件)

1. 恩地友莉絵、出垣内俊介、出雲直也、植出悠紀、石川敦司、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性における受容体様キナーゼの関与、平成26年度日本植物病理学会関西支部会、2014年9月、富山大学(富山県・富山市)
2. 出雲直也、植出悠紀、野崎美沙、大川ちはる、石川敦司、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性におけるMPK6とAtRbohFの関与、平成25年度日本植物病理学会関西支部会、2013年9月、岡山大学(岡山県・岡山市)
3. 野崎美沙、大川ちはる、中尾美里、中村遼太郎、石川敦司、シロイヌナズナにお

けるイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性、平成 24 年度日本植物病理学会関西西部会、2012 年 9 月、とりぎん文化会館（鳥取県・鳥取市）

4. 中尾美里、中村遼太郎、喜多香保理、犬飼龍矢、石川敦司、シロイヌナズナにおけるイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性、平成 23 年度日本植物病理学会関西西部会、2011 年 10 月、サンポートホール高松（香川県・高松市）

〔その他〕

ホームページ

福井県立大学生物資源学部

<http://biotech.fpu.ac.jp/5f.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

石川 敦司 （ISHIKAWA, Atsushi）

福井県立大学・生物資源学部・教授

研究者番号：70264687