

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 28 日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450058

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) 4,000,000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侵入抵抗性と伸展抵抗性に分けられる。本研究では、侵入抵抗性と伸展抵抗性を制御する因子として、受容体型キナーゼERECTAとSOBIR1を新たに同定した。また、シロイヌナズナpen2 er二重変異体およびpen2 sobir1二重変異体を用いたアレイ解析から、ERECTA依存性あるいはSOBIR1依存性の発現制御を受ける遺伝子を同定した。この結果から、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における遺伝子発現は、受容体型キナーゼERECTAならびにSOBIR1を介する情報伝達経路により制御されていることが示唆された。

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 receptor like kinases, ERECTA and SOBIR1, function in penetration and post-penetration resistance to *M. oryzae* in *A. thaliana*. We also showed that expressions of some genes are regulated by ERECTA and/or SOBIR1 in NHR to *M. oryzae* in *A. thaliana*. This result suggests that ERECTA and SOBIR1 are involved in the signal transduction pathways that regulate NHR to *M. oryzae* in *A. thaliana*.

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。

申請者らは、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侵入抵抗性と伸展抵抗性に分けられ (Maeda, Ishikawa et al., *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2009)、PEN2 (ミロシナーゼ) AGB1 (三量体 G タンパク質βサブユニット) PMR5 (機能不明) MLO2 (膜タンパク質) および MPK6 (MAP キナーゼ) が両抵抗性を制御していること、ならびに AtRbohF (NADPH 酸化酵素) が後者を特異的に制御していることを見出した (Nakao, Ishikawa et al., *Scientific Reports*, 2011; Okawa and Ishikawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2013; Nozaki, Ishikawa et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2013; Okawa, Ishikawa et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2013)。また申請者らは、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)。さらに申請者らは、シロイヌナズナのパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) がイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性に関与していることを示唆する予備の結果を得ていた。しかし、その分子機構については明らかにならなかった。

そこで申請者らは、植物のイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性 (侵入抵抗性と伸展抵抗性) を制御するパターン認識受容体遺伝子の同定と機能解析を行い、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) 侵入抵抗性制御因子の同定と機能解析

申請者らの解析により、シロイヌナズナのパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) がイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性に関与していることが示唆されたが、その実態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パターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タ

ンパク質) の同定と機能解析を通して侵入抵抗性の制御機構を明らかにする。

(2) 伸展抵抗性制御因子の同定と機能解析

シロイヌナズナにおいては、複数の因子がイネいもち病菌に対する伸展抵抗性を正に制御していることが明らかとなったが、その詳細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、特にパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) の同定と機能解析を通して伸展抵抗性の制御機構を明らかにする。

(3) 非宿主抵抗性情報伝達経路の解析

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が、非宿主抵抗性を制御する情報伝達経路に関しては未解明のままである。本研究では、非宿主抵抗性を制御する情報伝達経路におけるパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) の位置づけを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 侵入抵抗性制御因子の同定と機能解析

シロイヌナズナにおける侵入抵抗性を制御するパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) を同定するために、パターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) 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* 二重変異体を作成し、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) 伸展抵抗性制御因子の同定と機能解析

シロイヌナズナにおける伸展抵抗性を制御するパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) を同定するために、パターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) 突然変異体について、イネいもち病菌に対する伸展抵抗性を解析する。また、*pen2* 二重変異体を作成し、それら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) 非宿主抵抗性情報伝達経路の解析

シロイヌナズナにおける非宿主抵抗性情報伝達経路を明らかにするために、突然変異体を用いたアレイ解析を行う。具体的には、上記(1)および(2)で作製した *pen2* 二重変異体にイネいもち病菌を接種後、RNA を抽出し、アレイ解析を行う。各二重変異体における遺伝子発現を比較することにより、非宿主抵抗性を制御する情報伝達経路におけるパターン認識受容体 (受容体型キナーゼと受容体型タンパク質) の位置づけを解析する。

4. 研究成果

(1) 侵入抵抗性を制御する受容体型キナーゼ遺伝子の同定

シロイヌナズナ *pen2 er* 二重変異体および *pen2 sobir1* 二重変異体におけるイネいもち病菌に対する侵入抵抗性を解析した。その結果、どちらの二重変異体においても *pen2* 変異体に比べて侵入抵抗性が低下していることを見出した。このことから、シロイヌナズナの受容体型キナーゼ ERECTA と SOBIR1 は、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 (Takahashi, Shibuya, and Ishikawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2016a, 2016b)。

(2) 伸展抵抗性を制御する受容体型キナーゼ遺伝子の同定

シロイヌナズナ *pen2 er* 二重変異体および *pen2 sobir1* 二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した。その結果、どちらの二重変異体においても *pen2* 変異体に比べて伸展抵抗性が低下していることを見出した。このことから、シロイヌナズナの受容体型キナーゼ ERECTA と SOBIR1 は、イネいもち病菌に対する伸展抵抗性を正に制御していることが明らかとなった (Takahashi, Shibuya, and Ishikawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2016a, 2016b)。

(3) 非宿主抵抗性情報伝達経路の解析

シロイヌナズナ *pen2* 変異体にイネいもち病菌を接種すると、多くの抵抗性関連遺伝子の発現が誘導されることをアレイ解析により見出した。これら遺伝子のなかには受容体型キナーゼおよび受容体型タンパク質遺伝子が含まれていた。

上記(1)および(2)において、シロイヌナズナの受容体型キナーゼ ERECTA と SOBIR1 は、イネいもち病菌に対する侵入抵抗性および伸展抵抗性を正に制御していることが明らかとなった。そこで、受容体型キナーゼ ERECTA と SOBIR1 が非宿主抵抗性関連遺伝子の発現誘導に及ぼす影響について解析した。具体的には、シロイヌナズナ *pen2 er* 二重変異体および *pen2 sobir1* 二重変異体にイネいもち病菌を接種後、アレイ解析を行った。その結果、*pen2* 変異体において発現誘導を受ける遺伝子は、次の4つのグループに分けることができた。 ERECTA 依存のかつ SOBIR1 非依存の発現制御を受ける遺伝子、 SOBIR1 依存のかつ ERECTA 非依存の発現制御を受ける遺伝子、 ERECTA 依存のかつ SOBIR1 依存の発現制御を受ける遺伝子、 ERECTA 非依存のかつ SOBIR1 非依存の発現制御を受ける遺伝子。これら結果から、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における遺伝子発現の一部は、受容体型キナーゼ ERECTA ならびに SOBIR1 を介する情報伝達経路により制御されていることが示唆された。

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2件)

1. Toshiharu Takahashi, Haruki Shibuya, and Atsushi Ishikawa
SOBIR1 contributes to non-host resistance to *Magnaporthe oryzae* in *Arabidopsis*
Biosci. Biotechnol. Biochem., 80, 1577-1579, 2016, 査読有
DOI:10.1080/09168451.2016.1164586

2. Toshiharu Takahashi, Haruki Shibuya, and Atsushi Ishikawa
ERECTA contributes to non-host resistance to *Magnaporthe oryzae* in *Arabidopsis*
Biosci. Biotechnol. Biochem., 80, 1390-1392, 2016, 査読有
DOI:10.1080/09168451.2016.1151345

[学会発表](計7件)

1. 高橋利治・渋谷明生・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 SOBIR1 の関与、平成 28 年度日本植物病理学会関西支部会、2016 年 9 月、静岡県コンベンションアーツセンター (静岡県、静岡市)

2. 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、平成 28 年度北陸線植物バイオサイエンス研究会、2016 年 11 月、金沢大学サテライトプラザ (石川県金沢市)

3. 高橋利治・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 SOBIR1 の関与、平成 28 年度北陸線植物バイオサイエンス研究会、2016 年 11 月、金沢大学サテライトプラザ (石川県金沢市)

4. 大杉拓士・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関与する受容体型キナーゼの探索、平成 28 年度北陸線植物バイオサイエンス研究会、2016 年 11 月、金沢大学サテライトプラザ (石川県金沢市)

5. 村田一樹・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関する受容体型キナーゼの探索、平成28年度北陸線植物バイオサイエンス研究会、2016年11月、金沢大学サテライトプラザ（石川県金沢市）
6. 高橋利治・渋谷明生・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 ERECTA の関与、平成27年度日本植物病理学会関西支部会、2015年9月、あわぎんホール（徳島県、徳島市）
7. 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、富山大学五福キャンパス（富山県富山市）

〔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