

グラム陽性菌由来ペプチドグリカンの 植物免疫賦活効果に関する研究

公益財団法人かずさ DNA 研究所ゲノム事業推進部植物 DNA 解析グループ・研究員 横谷 尚起

■ 目的

農業生産において害虫や病害微生物による被害は深刻な問題であり、その対策のためには植物が持つ防御機構である植物免疫を理解することが重要である。植物免疫においては、細胞膜に存在するパターン認識受容体と呼ばれるタンパク質複合体が病原体に由来する物質(MAMPs; microbe-associated molecular patterns)を認識し、そのシグナルが各種制御タンパク質を介して核に伝わることにより防御関連遺伝子群の発現が誘導される。トマトかいよう病はグラム陽性細菌 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (かいよう病菌)により引き起こされるトマトの重要病害であり、その乾物重量の大部分を占めるペプチドグリカン(PG)は植物の防御応答を誘導する MAMPs として機能することが知られている。そこで本研究ではかいよう病菌に由来する PG が植物免疫に及ぼす影響を調査した。

■ 方法

PG は液体培養したかいよう病菌を遠心し、得られた沈殿を滅菌蒸留水により 3 回洗浄した後、100°C で 30 分加熱し、凍結乾燥したものをを用いた。PG 処理は播種後 10 日目のトマト幼植物を 100 µg/mL の PG 水溶液に 2 時間浸すことで行った。RNA-Seq は Illumina NextSeq500 system (Illumina, Inc., San Diego, CA, U.S.A) で実施し、得られた配列データをトマト参照配列 (ITAG4.0) にマップした。実験は各サンプル 2 反復で実施し、Log₂(CPM+1) 値の平均の差が 4 倍以上の遺伝子を発現変動遺伝子とみなした。

■ 結果および考察

RNA-Seq によりかいよう病菌由来の PG を処理したトマト子葉のトランスクリプトームを調査した。その結果、PG により対照区と比較して 904 遺伝子の発現が 4 倍以上に上昇し、一方で 746 遺伝子の発現が 1/4 以下に低下した。以前に私たちが登録したかいよう病菌感染時のトランスクリプトーム実験 (DDBJ accession DRA011479) と比較した結果、かいよう病感染により誘導される 1,788 遺伝子のうち PG 処理と共通するものは 143 遺伝子のみであり、かいよう病応答が PG だけではなく複雑なシグナルにより制御されていることが示唆された。PG 処理により上昇した遺伝子についてジーンオントロジー解析を行った結果、転写、翻訳、タンパク質のターンオーバーの一連の流れに関与する遺伝子が有意に増加しており、植物が新規タンパク質の合成により病原体に対処していることが示された。PG により発現誘導される遺伝子には PG 受容体である Lyks や転写因子等の免疫関連遺伝子が多数含まれており、これらが抗菌や細胞保護の機能を持つ PR 遺伝子の発現を制御していると考えられた。本研究では PG に誘導される植物免疫に関与する多数の遺伝子が同定された。これらの機能解析を通じて育種やプラントアクティベーター等を活用した防除につながることを期待したい。

■ 結語

かいよう病菌より精製した PG がトマトの遺伝子発現に及ぼす影響を調査した結果、多数の遺伝子の発現が誘導され、かいよう病菌を接種した場合のトランスクリプトームとは大きく異なることが明らかとなった。PG 処理では転写、翻訳、タンパク質のターンオーバーの一連の流れに関与する遺伝子が有意に増加していた。また、PG により PG 受容体、転写因子および PR 遺伝子等の免疫に関与する関連が多く誘導されており、PG により活性化される免疫を決定する遺伝子群が明らかとなった。