大豆、ジャガイモの生産力向上を目指した シスト線虫被害低減に関わる遺伝子の解析

■ 目的

本研究では世界中で大豆やジャガイモ生産に大きな被害を及ぼすシスト線虫の被害低減を目指して、シスト線虫の宿主根認識に関わる遺伝子の同定を目指す。シスト線虫は宿主作物が近傍に植えられるまでは土壌中でシストと呼ばれる殻の中で休眠している。休眠中はシストにより農薬や環境ストレスが高く、防除が難しいとされている。一旦宿主作物が植えられると作物が生産分泌する物質に応答して孵化し、宿主根へと移動する。孵化後のシスト線虫は農薬や環境ストレスに弱くなることから、孵化後、宿主根に寄生するまでの過程を制御することは防除に有効である。これまでにRNAseqにより GPCR 様遺伝子が宿主根移動時に発現上昇することを見出しており、これらの遺伝子がシスト線虫による宿主根認識の鍵遺伝子として予想している。そこで本研究では GPCR 様遺伝子の機能解析を行うために、RNAi 法により GPCR 遺伝子を発現抑制したシスト線虫を作成し、宿主根への移動、感染への影響を調査した。

■ 方法

本研究ではシスト線虫として大豆シスト線虫を用いた。RNAseqにより発現上昇した遺伝子をそれぞれGPCR1-3と命名した。それぞれの遺伝子の部分配列500bp程度より二本鎖RNAを合成し、ソーキング溶液とともに大豆シスト線虫をインキュベートし、発現抑制体を作成した。ソーキングした大豆シスト線虫の一部からRNAを抽出し、逆転写後、qRT-PCRにより遺伝子発現の抑制を確認した。Pluronic F-127ゲルに大豆根端を埋め込み、そこから1cmほどの距離に大豆シスト線虫をおき、根への接触数及び感染数を経時的に観察した。コントロールとしてgfpの二本鎖RNAを用いた個体を使用した。

■ 結果および考察

GPCR1 および GPCR2 の単独発現抑制体は根への接触数に有意な差は認められなかった。一方で、GPCR3 の発現抑制体は根への接触数が有意に減少しており、さらに感染数も低下していた。GPCR3 はジャガイモシスト線虫やテンサイシスト線虫では保存されているもののモデル線虫である *C. elegans* や同じ植物寄生線虫であるネコブセンチュウでは保存されていなかったことから、シスト線虫特有の生活環を制御する遺伝子であると予想される。シスト線虫は宿主範囲が狭く、宿主植物以外の根には移動しないことから、GPCR3 が宿主認識に関わる重要な遺伝子であることが示唆された。今後ジャガイモシスト線虫のホモログの解析や、異種発現系を用いた機能解析研究によって GPCR3 の宿主認識に関わる働きを明らかにしていきたい。

■ 結語

本研究により宿主認識に重要と考えられる GPCR 遺伝子を明らかにすることができた。今後の研究によりシスト線虫の宿主認識機構が明らかとなり、それを用いた防除法の開発が期待される。