

農産物被害低減に関わるシスト線虫 GPCR 遺伝子の機能解析

東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科・准教授 伊藤 晋作

■ 目的

本研究では世界中で大豆やジャガイモ生産上最大の減収要因の一つであるシスト線虫の被害低減を目指し、ダイズシスト線虫で宿主特異的に機能する遺伝子 GPCR3 に着目し、その下流で機能する遺伝子の同定を目指す。シスト線虫は通常土壤中で近傍に宿主植物が植えられるまで休眠しており、宿主植物が生産、分泌する孵化促進物質を認識して孵化する。孵化後のシスト線虫は農薬や環境ストレスに感受性となるため、孵化後、宿主植物への寄生までの過程を制御することが防除に有効である。これまでに宿主植物の認識時に発現上昇する遺伝子の中から、宿主認識に関わる遺伝子を探索し、GPCR3 がダイズシスト線虫の宿主認識に関与することを見出している。一方、GPCR の下流では G タンパク質などが機能していると予想されるが GPCR3 の下流で機能しているかは明らかとなっていない。そこで本研究では GPCR3 を介した宿主認識シグナル伝達経路を明らかにするために RNAseq により GPCR3 と同様に発現上昇していた GPA-3 遺伝子に着目し、RNAi による機能解析を試みた。

■ 方 法

本研究ではシスト線虫としてダイズシスト線虫を用いた。RNAseq により発現上昇した G タンパク質遺伝子 (*Hg-gpa-3d*) が一つ存在したため、この遺伝子のホモログを検索したところ、ダイズシスト線虫では 4 種類のホモログが存在していたため、これらを *Hg-gpa-3a, b, c, d* とした。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ダイズシスト線虫とともにインキュベートし、発現抑制体を作成した。ソーキングしたダイズ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 1 cm ほどの距離にダイズシスト線虫をおき、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

それぞれの遺伝子の単独発現抑制体を作成したところ、どれの発現抑制体でも標的特異的な発現抑制を観察することができた。一方、発現抑制割合は *Hg-gpa-3d* で 80% と最も高く、残りの遺伝子は 40-60% 程度であった。根への接触数を測定したところ *Hg-gpa-3d* でのみ有意な接触数の低下が観察され、さらに根への侵入数の低下も観察された。*Hg-gpa-3a, b, c* では接触数の低下が観察されなかつたが、それは発現抑制割合が低いことも原因であると考えられる。しかし、*Hg-gpa-3d* の単独発現抑制体でも宿主根への接触数が低下したことから、少なくとも本遺伝子が宿主根認識に関与することが明らかとなった。今後、他のシスト線虫のホモログの解析や動物細胞を用いた GPCR3 との共発現系の構築により、GPCR3 を介した宿主認識シグナル伝達系が明らかになると考えられる。

■ 結 語

本研究により宿主認識に *Hg-gpa-3d* 遺伝子が関与すること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。