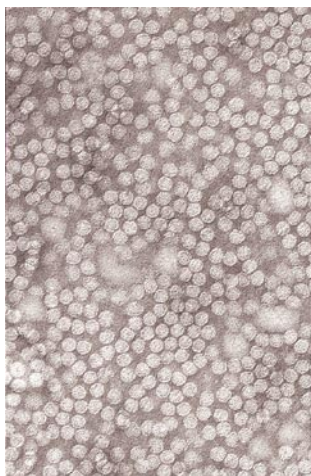


Analysis and Application of Genes Responsive to Biological Stresses in Plants 植物の生物ストレス応答の解析とその利用

プロジェクトリーダー 三 瀬 和 之

京都大学 大学院農学研究科 助教授



1. 研究の目的

植物は種々の生物（病原体）、例えば、ウイルス、バクテリア、糸状菌、昆虫などの攻撃を受けますが、それらに攻撃されるといち早く気づくシステムをもっています。攻撃している病原体が何であるかを植物は物質によって判断しています。その物質は、それぞれの病原体によって異なりますが、タンパク質や糖等であり、植物は色々なシステムを使ってその物質を認知し、植物もっている抵抗反応システムにスイッチを入れ、攻撃を防いだり、被害を少なくするように働きかけています。一方、攻撃してくる側も、その防御機構を打ち破るシステムをもっており、戦いとなります。もし、この戦いに敗れると植物は発病することになります。本プロジェクトは、どのような物質によって植物は攻撃してくる生物を認知するのか、また、病原体はどのようにして植物の防御機構を打ち破るのかを明らかにし、その知見を元に植物に抵抗性を付与することを目的としています。一方、ウイルスは他の病原体と少し異なり、宿主である植物の細胞に寄生し全ての材料を植物細胞から借り受けます（植物の因子）。言い換えると、植物から借り受けないと子孫ウイルスを作ることができません。また、ウイルスが全身に拡がるためには、細胞間連絡を通り抜けなければなりません。それに関わる植物の因子を明らかにし、それらを改変することによってウイルス抵抗性を付与することを目的として研究しています。本プロジェクトは、病気から作物を守ることにより、食糧の増産はもとより農業の使用や労働力の低減に貢献するとともに、地球環境問題をも含む、21世紀の重要課題解決にも貢献することが期待されています。



2. 研究の内容

(1) 植物 RNA ウイルスの増殖に關与する宿主因子の同定

タバコモザイクウイルス (TMV) の増殖が抑制される tom1, tom2 変異株をウイルスの宿主であるシロイヌナズナから単離し、各変異に対応する原因遺伝子の同定を試みました。現在までに、TOM1, TOM2A, TOM2B, そして TOM1 のホモログである TOM3 をクローン化し、対応するアミノ酸配列を明らかにしました。これらはいずれも、機能のわかった蛋白質とのアミノ酸配列の相同性を示さず、本来の機能は不明ですが、変異の性質から、これらの野生型遺伝子の産物はウイルスの増殖をサポートするものと考えられます。逆に、これらの遺伝子の発現を人為的に抑制すればウイルス耐性植物が作出できるはずで、現在、これらの遺伝子産物のウイルス増殖における機能とシロイヌナズナにおける本来の機能の探索という基礎的な面と、ウイルス耐性植物作出に向けての応用的側面から研究を進めています。

(2) ウイルスと宿主因子間の相互作用の解明とその利用

ブロムモザイクウイルス (BMV) の遺伝子産物と直接相互作用するオオムギの宿主因子を、酵母 Two-hybrid system を用いて検索し、これまでに BMV 外被タンパク質 (CP) と直接的に反応する 3 つの宿主因子遺伝子 Hcp1, Hcp2, Hcp3 をクローニングしています。現在最も解析の進んでいる Hcp1 遺伝子については、BMV がオオムギに全身感染するためには CP と HCP1 との直接的な結合が必要であることを示唆するデータを得ています。現在、これらの遺伝子の細胞内での役割を調べるため、形質転換植物を作製し、BMV 感染に及ぼす影響を調査中です。

(3) ウイルス感染に伴う植物因子の関与の機構

TMV の細胞間移行タンパク質は細胞内でリン酸化を受けてはじめて機能することがわかりました。また移行タンパク質とマーカータンパク質 (GFP) との融合タンパク質は正常に機能することが明らかとなったので、細胞内での機能の様子を調べたところ、移行タンパク質は機能した後、直ちに分解されていくことがわかりました。このことからリン酸化の阻害や分解促進などによるウイルス抵抗性の方法を検討しています。

(4) ジャガイモ Y ウイルス抵抗性遺伝子の選抜法の開発

多様な 2 倍体および 4 倍体のジャガイモ品種・系統群について、ジャガイモ Y ウイルス (PVY) 抵抗性遺伝子の関連領域情報を用いて、SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) マーカーを作成し、日本品種を含む多様な品種群で 100% 抵抗性と感受性の判別ができるようになりました。SCAR マーカーの鑄型となったジャガイモゲノム領域は、植物病害虫抵抗性遺伝子に共通して存在する NBS の一部分である Kinase2 及び Kinase3a のモチーフを含んでおり、アミノ酸及び DNA レベルともに非常に高い保存性が認められました。この情報をもとに、Ryadg 遺伝子のクローニングを進めています。また上記情報は、ナス科植物一般に適用でき、比較進化や比較ゲノム解析に応用できる可能性が見い出されました。

(5) 植物の病原菌環境に対する応答機構の解明とその応用

植物の病気の 8 割は病原カビによって起こされます。カビは侵入に伴って、植物に付着するための高分子の糖蛋白質を分泌しますが、植物はこれを異物として認識し、抵抗性を発揮します。しかし、病原カビはこの抵抗反応を停止させる物質 (サブレッサー) を分泌していることが判ってきました。エンドウの系で病原カビの生産するこれらのシグナル物質のレセプター蛋白質を解析した結果、一つは細胞壁 NTPase であることが判明しました。現在、NTPase 改変植物の作成を行っています。

(6) 宿主特異的毒素が介在する植物病原菌の感染機構解析とその利用

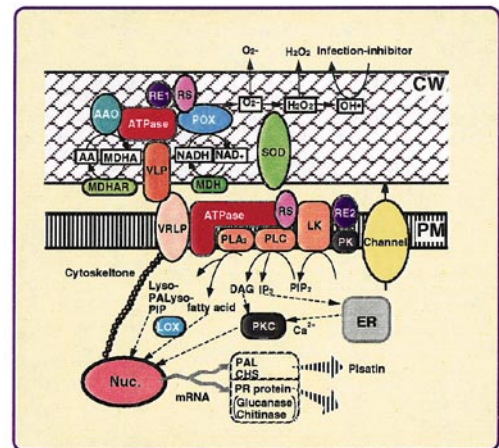
ある種の植物病原菌は宿主特異的毒素 (HST: 宿主植物のみに毒性を示し、通常二次代謝産物です) を放出し、植物細胞を殺傷し、抵抗反応を阻止した後、侵入します。HST のレセプターを単離し、アミノ酸配列から遺伝子をクローニングします。現在、タンパク質である HST が見つかり、そのアミノ酸配列を解析中です。

(7) 植物のオキシダティブバースト系の分子解析とその制御による耐病性の強化

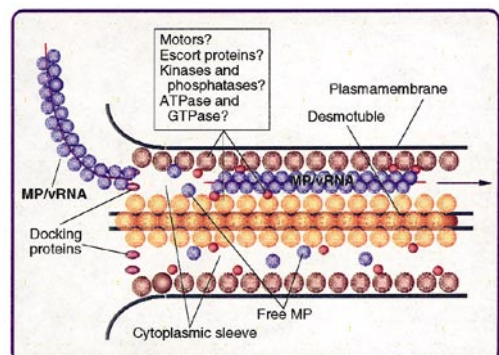
植物は病原菌の感染や異物に対して、接触の場のみならず全身的に防御反応を誘導し自己防衛を図ります。いずれの誘導初期にも急速に活性酸素生成反応 (オキシダティブバースト) が起こることを明らかにしてきました。その酵素的基盤である原形質膜の NADPH 酸化酵素系の分子基盤 (cDNA のクローニングと酵素の特性など)、その酵素系の活性化機構 (酵素系活性化に關与するシグナル因子など)、およびオキシダティブバーストの機能 (防御関連代謝の誘導や全身的シグナル発進機能など) を明らかにしてきています。また、得られた基礎的知見を応用し植物の耐病性を強化する「植物免疫」誘導の方策を検討しています。

(8) 植食者加害ストレスによって植物が生産する情報シグナル物質の生態系での機能解析

被害植物は加害している植食者 (害虫) の種類によって特異的な情報シグナル (化学物質) を生産し、その害虫を特異的に攻撃する天敵を呼びます。栽培植物-植食性ダニ-捕食性ダニ三者系において、植物が被害ストレスに応答し情報シグナルを生産する際に關与している植物内部のシグナル伝達系を明らかにしました。



植物の病害防御応答のシグナリングモデル



原形質連絡を通過するウイルスゲノムの移行形態



蛍光顕微鏡および蛍光検出システム

3. 研究体制

期 間: 1996 年 4 月 ~ 2001 年 3 月

構 成: ウイルス 4、糸状菌 3、昆虫 1、合計 8 研究グループが協力して研究を進めています。

実施場所: 京都大学大学院農学研究科を中心に、全国 7 国私立大学研究機関で研究が行われています。