植物病原性糸状菌のユニークな活物寄生戦略 宿主の免疫反応を抑えるために形成される細胞内の膜凝集体

植物にも外敵から積極的に身を守る免疫機構がある。たとえば植物は、菌類の細胞壁成分であるキチンの断片を細胞膜上の受容体で認識し、溶菌酵素やファイトアレキシンなどの抗菌物質を作り始める。それでは、植物病原菌はどのようにしてこの宿主免疫を回避して感染するのだろうか。イネいもち病菌を例に、最近明らかになった活物寄生戦略を紹介する。

イネいもち病菌 (*Pyricularia oryzae*, 旧 *Magnaporthe oryzae*, 以下、いもち病菌) は世界各地で稲作に深刻な被害をもたらす病原性糸状菌である。葉面上で発芽した胞子は発芽管の先端に付着器細胞を分化させる。メラニン化した付着器から出た侵入糸はイネ表皮細胞の細胞壁を貫通し、その後20時間ほどで、隣接したイネ細胞に侵入菌糸が拡がっていく。蛍光タンパク質遺伝子を利用して感染初期の侵入菌糸の挙動とイネ細胞内の変化が詳しく解析された結果、いもち病菌の興味深い感染様式が明らかになってきた。いもち病菌はイネの細胞膜や液胞膜を破壊することなく陥入させる形で侵入し、感染初期の侵入菌糸はイネ由来の膜に包まれた状態で伸長する。この膜はExtra-invasive hyphal membrane (EIHM) と呼ばれる⁽¹⁾。イネ細胞内で伸び始めた侵入菌糸の先端にはBiotrophic interfacial complex (BIC) と呼ばれるドーム状のEIHMの凝集体が形成される⁽²⁾。やがて侵入菌糸は丸みを帯びた細胞となり、BICの位置は侵入菌糸の伸長先端から側部に移る。侵入菌糸は分岐、伸長を続け、壁孔を通して隣接細胞に侵入し⁽¹⁾、そこで再び菌糸先端にBICが形成される。以上の菌の挙動とそれに伴うイネ細胞内の経時変化は、タイムラプス蛍光イメージング手法により動画で捉えられている⁽³⁾。

病原菌は感染時にエフェクターと呼ばれる多種多様なタンパク質を分泌して宿主免疫を回避する。いもち病菌では、これまでに200種以上の分泌タンパク質遺伝子の発現が感染初期に誘導されることが明らかになっているが、1遺伝子を破壊しても表現型が変化しないことが多いため、それらの機能に関する知見は少ない。いもち病菌のエフェクターには、Pwl2やAvrPiz-tなどイネ細胞内に移行する細胞内エフェクターと、Bas4やSlp1などの細胞外エフェクターが知られている。蛍光タンパク質

で標識された細胞内エフェクターは主にBICで観察されるため、BICを介してイネ細胞内に移行すると考えられている。一方、細胞外エフェクターは菌の細胞壁とEIHMの間のマトリックスにとどまるため侵入菌糸に沿って観察されるが⁽⁴⁾、特に強いシグナルがBICで観察される。筆者らは、この両タイプのエフェクターが蓄積する部位をBIC基部と呼んでいる⁽³⁾。蛍光タンパク質で標識した各種イネといもち病菌を使ってBIC周辺を高解像度で観察した結果、BICはイネの細胞質を巻き込んだEIHMの凝集体で、それを液胞膜が取り囲んでいることが示された。また、Pwl2はBIC内で直径~500nmの小胞状に局在することが明らかになった^(3,5)。これらの観察結果から、細胞内エフェクターは侵入菌糸から分泌された後、BIC基部にトラップされ、BIC内で膜融合によってイネ細胞質に移行すると推測される。最近、いもち病菌に作らせた蛍光タンパク質のイネ細胞内への移行は、細胞内エフェクターのプロモーターおよび分泌シグナル領域があれば十分であることが明らかになった⁽⁶⁾。それではなぜ、BIC基部の細胞外エフェクターはイネ細胞内に移行しないのだろうか。いもち病菌エフェクターの局在性はそのプロモーター領域に依存するという報告もあり、エフェクターの宿主細胞への取り込み機構は今後の解析が待たれる。

BIC形成は菌の病原性発動プロセスの一つなのか、それともイネの免疫応答の一つなのか、その意義は不明であった。最近、感染時特異的に発現量が増加するいもち病菌の分泌タンパク質遺伝子の一つがBIC形成を担うことが明らかとなり、*RBF1* (*Required for focal BIC formation 1*) と名づけられた⁽⁶⁾。*RBF1*の発現はBIC形成の直前にあたる付着器からの侵入時と隣接細胞への伸展時に一過的に誘導される。そして、*RBF1*破壊株 ($\Delta rbf1$) ではドーム状のEIHM凝集体が形成されず、BIC基局部在性エフェクター由来の蛍光シグナルが侵入菌糸に沿って散在することが明らかになった (図1)。興味深いことに、 $\Delta rbf1$ ではイネ葉への病原性が著しく低下する。被侵入部に褐変化を伴う細胞死が誘引され、菌の伸展がストップするのである。また、 $\Delta rbf1$ 接種葉では複数のエフェクターのイネへの移行レベルが低下し、ジテルペ

図1 ■ イネいもち病菌の活物寄生メカニズム
いもち病菌は感染時特異的に *RBF1* 遺伝子を発現し、Rbf1 タンパク質を分泌して宿主膜凝集体 (BIC) を形成する。ドーム状のBICが形成されないと宿主免疫応答が亢進し、菌は増殖できない。

ノイド型ファイトアレキシン合成をはじめとするイネの免疫応答が亢進する。一方、 $\Delta rbf1$ は内生サリチル酸の分解によって免疫力を低下させたイネや、サリチル酸シグナルのアンタゴニストといわれるアブジジン酸で処理したイネでは増殖できた。これらのことから、いもち病菌は侵入時にRbf1 タンパク質を分泌し、イネの細胞内にBIC基部を形成すること、そして、ドーム状のBIC形成がエフェクター群の機能発現に重要であり、いもち病菌の活物寄生戦略の一つであることが明らかになった(図1)。

RBF1 はデータベース上、*P. oryzae* に特異的な遺伝子であり、サザン分析で見える限り、メヒシバやタケ等から分離された遠縁のいもち病菌には存在しない⁽⁶⁾。また、これまで報告されてきたエフェクターに比べてサイズが大きく、グリシン (22.8%) とアラニン (19.5%) に富む658アミノ酸残基をコードする。どのようにしてRbf1 タンパク質が侵入菌糸先端にBIC基部を形成するのか、その分子機構の解明は今後の課題であるが、感染の鍵となる遺伝子が同定されたことから、本遺伝子の働きを抑制するという新しいタイプのいもち病防除法の開発研究が期待される。

- 1) P. Kankanala, K. Czymmek & B. Valent: *Plant Cell*, **19**, 706 (2007).
- 2) C. H. Khang, R. Berruyer, M. C. Giraldo, P. Kankanala, S. Y. Park, K. Czymmek, S. Kang & B. Valent: *Plant Cell*, **22**, 1388 (2010).
- 3) S. Mochizuki, E. Minami & Y. Nishizawa: *Microbiology Open*, **4**, 952 (2015).
- 4) E. Oliveira-Garcia & B. Valent: *Curr. Opin. Microbiol.*, **26**, 92 (2015).
- 5) Y. Nishizawa, S. Mochizuki, N. Yokotani, T. Nishimura &

E. Minami: *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **95**, 70 (2016).

- 6) T. Nishimura, S. Mochizuki, N. Ishii-Minami, Y. Fujisawa, Y. Kawahara, Y. Yoshida, K. Okada, S. Ando, H. Matsu-mura, R. Terauchi *et al.*: *PLoS Pathog.*, **12**, e1005921 (2016).

(西澤洋子, 南 栄一, 農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門)

プロフィール

西澤 洋子 (Yoko NISHIZAWA)

＜略歴＞1987年名古屋大学大学院農学研究科生化学制御専攻博士前期課程修了／同年農林水産省農業生物資源研究所研究員／2016年農研機構生物機能利用研究部門主席研究員、現在に至る。この間米国カーネギー研究所植物部門で2年間博士研究員＜研究テーマと抱負＞ミクロの世界で繰り広げられる植物と微生物のやりとりを理解し、伝えたい＜趣味＞観ること（生物や芸術、最近は特に空目）、ハイキング

南 栄一 (Eiichi MINAMI)

＜略歴＞1986年名古屋大学大学院農学研究科生化学制御専攻博士後期課程修了／同年農学博士、農林水産省農業環境技術研究所農薬動態科研究員、同農業生物資源研究所細胞育種部主任研究官を経て、2016年から農研機構生物機能利用研究部門主席研究員、現在に至る。この間米国テネシー州立大学で2年間博士研究員＜研究テーマと抱負＞イネとイネいもち病菌の相互作用、とりわけいもち病菌の病原性の物質の実体に興味＜趣味＞読書。特に歴史物が好きですが、最近明治・大正文学をこの歳になって読み始めました。乗り鉄です

Copyright © 2017 公益社団法人日本農芸化学会
DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.55.450