Pesticide Science Society of Japan

日本農薬学会誌 **33**(1), 95–97 (2008)

解　　説

読 物 企 画

植物抵抗性遺伝子の多様性獲得機構：オーダーメイド抵抗性育種へ向けて

平　野　　恒 *

独立行政法人　農業生物資源研究所

（平成19年11月20日受付）

Keywords:　resistance gene, avirulence gene, diversity, molecular evolution.

はじめに

植物の病虫害に対する防除体系としては，現在の農薬を中心とした体系から，長期的には病虫害抵抗性遺伝子等による抵抗性育種へとシフトしていくことが望まれる．今後新たな抵抗性育種方法の考案・実践の必要性を踏まえた場合，植物の抵抗性機構を理解した上で明確な育種目標を設定していくことが効率的な抵抗性育種を行うためには必要である．本稿では，植物の抵抗性反応の中でも比較的大きな役割を担っている真正抵抗性遺伝子（*R*-gene）を介した反応に焦点を絞って，どのようにして*R*-geneの多様性が生み出され，変異を起こしやすい病原菌を認識し続けているのかについて述べる．また，まだ手探り状態ではあるが，*R*-geneを人為的に改変する手法を用いた抵抗性育種の可能性についても簡単に紹介する．

1. *R*-因子による抵抗性反応の機構

R-geneからの産物（*R*-因子）を介した抵抗性反応は，*R*-因子が病原菌の侵入を感知した後，速やかに一連の防御応答を引き起こす反応である．多くの場合，過敏感反応と称される感染部位近傍での局所的な細胞死を伴う[1]．*R*-因子は病原菌側の何らかの因子を認識することによって抵抗性反応を引き起こす訳であるが，認識される病原菌側の因子を総称して非病原性遺伝子産物（*Avr*-因子）と呼んでいる．また*R*-因子による*Avr*-因子の認識は非常に特異性が高く，病原菌側の対応する*Avr*-因子の有無によって抵抗性・感受性が決定される．このことは，この反応が動物の免疫系における抗原（*Avr*-因子）－抗体（*R*-因子）反応に類似したものとして考えると理解しやすく，実際これまではそのような機構によって抵抗性反応が引き起こされるのではないかと捉えられてきていた．しかし近年の研究から，多くの*R*-因子は*Avr*-因子とは直接結合せず，どちらかというと病原菌の侵入・攻撃によって植物体内に変化が生じた結果，その変化を*R*-因子が認識して抵抗性反応が開始される場合が多いのではないかと考えられてきている．言い換えると*R*-因子は植物体内での異常を監視するパトロール役としての機能を担っており，通常不活性型である*R*-因子が*Avr*-因子を介した感染過程を通じて活性型へと変換されることにより抵抗性反応が引き起こされるというモデルである（ガード仮説）[2]．

このガード仮説を支持する一例として，グラム陰性細菌である*Pseudomonas syringe*に対するアラビドプシス（*Arabidopsis thaliana*）の*R*-因子RPS2が挙げられる[3]．RPS2は植物のRIN4タンパク質と相互作用するが，RIN4が*P. syringe*の*Avr*-因子であるAvrRpt2により切断を受けるとRPS2を介した抵抗性反応が作動する．RPS2がRIN4の切断という植物体内の異常を感知した結果，抵抗性反応が開始されるという仕組みである．

しかしその一方で，少数ではあるが*Avr*-因子と直接結合する*R*-因子もいくつか報告されており[1]，*R*-因子が*Avr*-因子を直接受用することにより抵抗性反応が引き起こされる単純な機構も存在するのではないかと思われる．

2. *R*-因子と*Avr*-因子の共進化

R-因子と*Avr*-因子との関係を考えた場合，病原菌側は*R*-因子からの認識を潜り抜けることによって何とか感染を成立させるよう工夫を施す．病原菌側が取れるであろう戦略

第32回大会シンポジウム講演者による解説

* 〒305–8602 つくば市観音台 2–1–2
現在の所属：名古屋大学　生物機能開発利用研究センター
E-mail: khirano@agr.nagoya-u.ac.jp

© Pesticide Science Society of Japan

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan

の中で最も単純なものとしては，*Avr*-因子をコードする *Avr*-gene を自身のゲノムから欠失させてしまうことである．実際，抵抗性を示す品種を圃場で栽培し始めると，数年の内にその品種を侵すことのできる新たな病原菌の出現により抵抗性崩壊がおきることがこれまでの経験から知られているが，これは病原菌が短期間のうちに *R*-因子からの認識を逃れる能力を持ち合わせていることを示す良い例ではないだろうか．

一方，植物としては病原菌の侵入を感知することにさえ成功すれば充分であり，認識する因子は植物に存在しない因子であれば基本的にはどのようなものであっても構わないと予想される．しかしながら，現在までにその実体が明らかとなっている *Avr*-因子のほとんどは病原菌にとって病原性発揮のために必要なファクターである．

ここまで述べてきたことは，植物と病原菌の間で *R*-因子/*Avr*-因子を介した認識・認識からの回避といった双方によるせめぎあいが起きていることを物語っており，以下にそのモデルを段階を追って記す．まず初めに *R*-因子が任意の *Avr*-因子を直接認識することによって病原菌の感知が可能となる（図 1A）．病原菌は *Avr*-因子が生存や病原性発揮に必要でない場合には *Avr*-因子に変異や欠失などを生じさせ，*R*-因子による認識から逃れる．一方で，*R*-因子が病原菌の病原性発揮に必要な因子を認識する場合においては *Avr*-因子を捨て去ることは病原菌が病原性を発揮できなくなることを意味するため，病原菌は *Avr*-因子を捨て去るといった手法を容易にとることはできない（図 1B）．しかしながら，病原菌が病原性を保ちつつ *Avr*-因子の *R*-因子との結合に必要な部位のみを変異させることが可能な場合には，*R*-因子の認識から逃れることに成功する．最後に，*R*-因子が植物体内の変化を感知する場合（図 1C），病原菌は侵

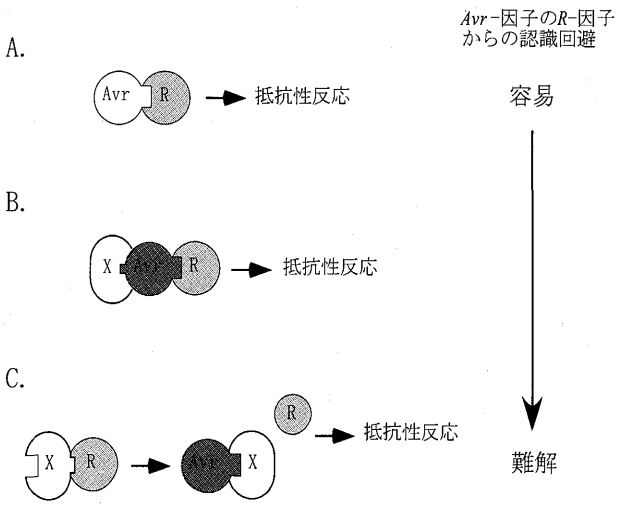

図 1. *R*-因子による Av*R*-因子の認識（モデル図）．R: *R*-因子、*Avr*: *Avr*-因子，（黒色で示した *Avr*-因子は病原性発揮に必要な *Avr*-因子），X: 病原性 *Avr*-因子のターゲットとなる植物因子．

入・感染の際の攻撃目標や手法を変更しない限り，*R*-因子による認識からは逃れられないと予想される．このように植物側からみると *R*-因子を監視役として機能させることは非常に有効な手段であろうと考えられる．では *Avr*-因子と直接結合する *R*-因子が存在する意味はどこにあるのだろうか（図 1A）？ 一つの考え方としては，ガード仮説で示されるような反応（植物体内の変化を感知した後，初めて作動する抵抗性反応）に比べ，*R*-因子が *Avr*-因子を直接認識した場合，より早期の段階で病原菌の侵入を察知することが可能となるのかもしれない．

3. *R*-gene の多様性獲得機構

R-因子の多くは NBS（nucleotide binding site)-LRR（leucine rich repeat）構造を有しており，LRR は病原菌の認識に，NBS がそのシグナルを伝達する役割を担っていると一般的に考えられている．NBS-LRR 型 *R*-gene はアラビドプシスのゲノム上に約 150 個程度存在する[4]．これまで述べてきた *R*-因子による抵抗性反応機構からも判るように単純な比較はできないが，これは動物の免疫系が 10^7 個もの多様な抗体を作り出すことが可能であるのに比べはるかに低い値である．一つには植物が動物のような循環器系を持たず各細胞それぞれが病原菌に対抗しなくてはならないため，抗体の多様性を生み出す genome rearrangement[5] と同様なシステムを利用できない点が挙げられる．また *R*-因子は病原菌からの攻撃時以外に誤って抵抗性反応を作動させてしまう危険性を含んでおり，*R*-因子を多数むやみに自身の細胞に保有することには大きなリスクが伴う．そのため植物が変異を起こす病原菌を認識し続けるためには，限りある数の *R*-因子を用いて，それらを状況に応じて変化させる機構を備えている必要があると考えられる．

ゲノムワイドな研究から多くの NBS-LRR 型 *R*-gene はゲノム上でクラスターを形成して局在していることが知られている[1]．トウモロコシ（*Zea mays*）の *Rp1* クラスターは品種による違いはあるが，最大で 52 個の *R*-gene を有する[6]．こういった密集した *R*-gene 領域の多くでは，異なる *R*-gene 間で頻繁な非相同性組み換えや遺伝子変換を起こし，互いのドメインを部分的に交換することによって新規な *R*-gene を作り出す多様化機構がこれまで知られている[1]．アマ（*Linum usitatissimum*）の *R*-因子である *L*-gene においては，実際ドメイン交換によってできた産物がこれまで元の *R*-因子が認識することのできなかった病原菌を認識することが報告されており[7]，これが *R*-gene の多様性を生み出す機構であることが広く支持されている．

我々は上記の機構とは異なり，イネ（*Oryza sativa*）やアラビドプシスの品種・accession 間比較から，多くの *R*-gene が通常のゲノム領域の数倍～10 倍近い点突然変異を蓄積したゲノム領域に局在することを明らかにしている（平野・

NII-Electronic Library Service

Pesticide Science Society of Japan

川崎ら，未発表データ）．さらには，こういったゲノム変異の激しい領域に局在する *R*-因子は，病原認識に重要と考えられている LRR に特に多くの変異が蓄積している．このことは，ゲノム領域によって変異の発生頻度が異なり，*R*-gene がゲノム変異のホットスポットに局在することが *R*-gene に多様性を付与する大きな原動力であることを示唆しており，組み換えとは異なる *R*-因子多様化機構ではないかと考えられる．頻繁な組み換えによるドメイン交換は *R*-因子をホモジェナイズし，逆に *R*-因子の多様性を減少させてしまうため，組み換えと点突然変異の発生頻度がバランスよく保たれていることが多様性の維持に重要なのではないだろうか．さらに興味深いことに，病原菌感染時に組み換えの頻度がアラビドプシスのゲノムで上昇することも報告されている[7]．これら組換え，点突然変異，病原菌感染の 3 つの要素が組み合わさることによって，植物は速やかに新たな特異性を持つ *R*-因子を作出しているのかもしれない．

4. *R*-因子の育種への応用

その効力の大きさから，*R*-因子を用いた抵抗性育種は古くから行われてきている．前述したように，単一の *R*-因子を導入した品種では数年のうちに抵抗性崩壊が観察されることから，現在では多数の異なる *R*-因子を一つの品種に導入するピラミディング法や，異なる *R*-因子を持つ品種を同じ圃場に混植するマルチライン法によって感染を防ぐ試みがイネにおいてなされており，特にマルチライン法は今のところ高い効果を示すことが報告されている．

それではこれまで解説してきた *R*-因子による機構を理解した上で新たな抵抗性育種法の構築は可能なのであろうか？ 最近 Farnham[9] らは，ジャガイモ（*Solanum tuberosum*）由来の *R*-因子である Rx タンパク質の LRR ドメインにランダムな変異を導入した改変型 Rx タンパク質の作製を行なった．その中から選抜されてきた改変型 Rx タンパク質はこれまでの Rx タンパク質とは異なる認識特異性を持ち，タバコ植物（*Nicotinia benthamiana*）に導入した場合，これまで Rx タンパク質が認識し得なかった *Avr*-因子を持つウイルスに対して抵抗性を示すことが報告されている．我々のグループも現在，病原菌が感染する上で必須となる因子を認識する *R*-gene を分子進化工学的手法により構築し，広く抵抗性を示す植物品種の改良を試みている．前者のグループと異なる点は，今まで *R*-因子によって認識されることが示されていない因子をターゲットとしている点である．ターゲット因子を認識する *R*-因子の構築に現在まで成功しており（池田・川崎ら未発表データ），得られた改変型 *R*-因子を植物に導入することによって病原菌に対する効果を検討中である．日本で遺伝子組み換え作物を商品化することは現時点では難しいと思われるが，今後新たな技術の開発などによって，現在の研究が応用されることを期待している．

（本稿で未発表データとして記載した内容は独立行政法人農業生物資源研究所の川崎信二上席研究官のもと，池田健一博士（現 神戸大学自然科学研究科）とともに行った研究であることを追記させていただく．）

引 用 文 献

1) J. M. McDowell and S. A. Simon: *Mol. Plant. Pathol.* **8**, 437–448 (2006).
2) E. A. Van der Biezen and J. D. Jones: *Trends Biochem. Sci.* **23**, 454–456 (1998).
3) M. J. Axtell and B. J. Staskawicz: *Cell* **112**, 369–377 (2003).
4) B. C. Meyers, K. A. Kozik, A. Griego, H. H. Kuang and R. W. Michelmore: *Plant Cell* **15**, 809–834 (2003).
5) N. Hozumi and S. Tonegawa: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **73**, 3628–3632 (1976).
6) S. M. Smith, A. J. Pryor and S. H. Hulbert: *Genetics* **167**, 1939–1947 (2004).
7) J. G. Ellis, G. J. Lawrence, J. E. Luck and P. N. Dodds: *Plant Cell* **11**, 495–506 (1999).
8) J. M. Lucht, B. Mauch-Mani, H. Y. Steiner, J. P. Metraux, J. Ryals and B. Hohn: *Nat. Genet.* **30**, 311–314 (2002).
9) G. Farnham and D. C. Baulcombe: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 18828–18833 (2006).

略 歴
平野 恒
生年月日：1970 年 8 月 24 日
最終学歴：東京農工大学大学院連合農学研究科生物生産専攻博士課程修了
研究テーマ：植物の分子レベルでの応答メカニズムの解明
趣味：テニス，水泳

NII-Electronic Library Service