2018年度前期　第3回　細胞生物学セミナー

日時：4月24日（火）17:00~　場所：総合研究棟6階クリエーションルーム

Expression of Barley Glutathione S-Transferase13 Gene Reduces Accumulation of

 Reactive Oxygen Species by Trichothecenes and Paraquat in *Arabidopsis* Plants

Ninik , N.W., Tomokazu, T., Daisuke, T., Kazuhiro, S., Takumi, N. (2018)

Plant Biotech. 35:1-9

オオムギのグルタチオンS-トランスフィラーゼ13遺伝子はシロイヌナズナの植物体内における

トリコテセンやパラコートによる活性酸素種の蓄積量を減少させる.

　ムギ類赤かび病菌のような*Fusarium*属は, かび毒であるトリコテセンを産生する赤かび病 (FHB) の病原菌である. トリコテセンは, 真核細胞内でタンパク質合成を阻害することが知られており, それらに汚染された食品はヒトや動物の健康を脅かし, シロイヌナズナではトリコテセン系毒素であるデオキシニバレノール（DON）やT-2トキシンが活性酸素種（ROS）の蓄積や細胞死を引き起こす. グルタチオンS-トランスフィラーゼ（GST）はROSや毒性化合物の解毒において重要である. FHB抵抗性オオムギの育種系統を使用したマイクロアレイ実験ではオオムギの*HvGST13*の発現が*Fusarium*に感染後増加し, FHBに対する抵抗に関与していることが示唆された. 本研究ではオオムギの*HvGST13*が宿主植物細胞内においてトリコテセンの植物毒性による影響を抑えると仮定し, *HvGST13*の役割を明らかにするため, トリコテセン処理下で*HvGST13*を過剰発現させたシロイヌナズナの植物体を解析した.

　植物材料としてシロイヌナズナ(*Arabudopsis thaliana* ecotype Columbia-0) の野生型 (WT) と*HvGST13*過剰発現体 (*HvGST13*ox)　を使用した. まず, DONと T-2トキシンを含む2 %スクロースMS固形培地へ種子を播種した. 2-3週間後にシュートの生重量と1次根の長さを測定した. その結果, トリコテセン系カビ毒を含まない培地ではWT, *HvGST13*oxのどちらも成長に変化は見られなかった. DONを含む培地では, WTにおいて形態的な変化を伴う成長の遅延が見られ, T-2トキシンを含む培地では, WTにおいて葉の変色を伴ったシュートの矮化が見られた. 一方, *HvGST13*oxではDONやT-2トキシンによる成長の遅延が著しく抑制された. また, 生重量と1次根の長さはWTに比べ*HvGST13*oxの方が増加した. 次に, トリコテセン系カビ毒による細胞死を可視化するためにlactic acid-phenol-trypan blue solutions (LPTB) 染色を, ROSの蓄積を検出するためにDAB染色を行い観察した. その結果, トリコテセン系カビ毒を含まない条件ではWTと*HvGST13*oxはROSの蓄積や死細胞数がほぼ同一であったが, トリコテセン系カビ毒を含む条件では*HvGST13*oxにおいてROSの蓄積量と死細胞数が減少した.

パラコートは, 植物体内においてROSや有機ヒドロペルオキシドの蓄積により光化学系Ⅱの阻害を引き起こす. トリコテセン系カビ毒を培地に加えた場合と同様に, パラコートを含むMS培地へ播種した場合においても, WTにおいて生長の遅延が見られた一方で, *HvGST13*oxでは生長の遅延が抑制された. また, LPTB染色とDAB染色ではパラコートを含む条件で*HvGST13*oxにおいてROSの蓄積量と死細胞数は減少した. 次に, 3週間生育した個体から葉をとり, パラコートを含むバッファーに浮かべ, 22℃, 連続照明下で2日間インキュベートした. その後, 分光光度計を用い, 葉のクロロフィル含量を測定した. その結果, WTではクロロフィル含量がパラコート処理により減少し, 白化が見られたが,　*HvGST13*oxではクロロフィル含量に変化は見られなかった.

最後に, 4-5週間生育させた植物体の葉の背軸面に*Fusarium graminearum*の胞子を接種し, 3日間22 ℃で培養した. その結果, *HvGST13*oxではWTに比べ病徴の進行度が遅く, ROSの蓄積が見られなかった.

　以上の結果より, *HvGST13*がROSの除去により植物体内におけるトリコテセン系カビ毒の活性を抑制したと考えられる.

興味を持たれた方はぜひご参加ください. 　池田　大志