

2024 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書【公開版】

研究担当者	田中茂幸
研究機関名	摂南大学
所属部署名	農学部
役職名	准教授
研究課題名	植物病原菌エフェクタータンパク質輸送機構の分子基盤
研究実施期間	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

### 研究成果の概要

植物病原菌であるトウモロコシ黒穂病菌は細胞外小胞を分泌し、その内部には多様なタンパク質や RNA が含まれている。これらの分子は植物細胞に送り込まれ、細胞の機能変化を引き起こすことで寄生が確立すると考えられる。本研究課題では、これらの分子が植物細胞に取り込まれる際、細胞外小胞膜と植物細胞膜との融合を介しているという仮説をもとに、この融合に関わることが期待される細胞外小胞膜上のタンパク質 ILP1 と相互作用する植物タンパク質の同定を試みている。

2 年次においては、ILP1 の細胞外領域（インテグリン様構造部分）のみを分泌タンパク質として過剰発現する形質転換体を作成し、これの感染葉から共免疫沈降実験を行った。沈降物のプロテオーム解析により得られた相互作用候補タンパク質群について、酵母ツーハイブリッド法を用いた相互作用検証を行った。その結果、ILP1 と相互作用する植物タンパク質候補として、PLAT ドメインを持つ分泌植物タンパク質が得られた。PLAT タンパク質は動植物に広く保存されており、細胞膜と相互作用する脂質結合タンパク質であることが示唆されている。動物の例では膜融合を促進することが示唆されており、ILP1 が PLAT タンパク質を利用して細胞外小胞-植物細胞膜融合を促進している可能性が考えられた。この結果を踏まえ、ILP1 と PLAT ドメインタンパク質の *in vivo*での相互作用を検証するため、ベンサミアーナタバコでの Agroinfiltration による一過的発現実験により、共免疫沈降や BiFC を行うためのコンストラクトを作成した。まず、PLAT タンパク質がベンサミアーナタバコで安定して発現可能であることを、ウェスタンブロットにより確認した。また PLAT タンパク質の生化学的機能を明らかにするため、大腸菌での組み換えタンパク質を用いた脂質結合実験を行うためのコンストラクトを作成した。