

植物オルガネラ間相互作用による異物認識機構に関する 分子解析

Molecular mechanism on organelle interactions in
model plant cells during defense responses

白石 友紀 (Tomonori, SHIRAIISHI)

岡山大学・大学院自然科学研究科 (農学系)・教授



研究の概要

本研究は病原微生物シグナル分子と複数のモデル植物を用いて、感染の成否と密接にリンクした活性酸素生成・イオンフラックス及び環境応答遺伝子群の発現を指標に病原微生物によって制御される植物感染の成否のメカニズムと情報伝達系を植物のオルガネラ及びオルガネラ間のクロストークという切り口で解明するものである。異物認識から細胞応答に至るシグナルにおいて各オルガネラが果たす役割を解明し、植物分子細胞病理学の構築を目指すとともに、耐病性分子育種への提言も行いたい。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：植物の防御応答、オルガネラネットワーク、MAMPs、サプレッサー

1. 研究開始当初の背景・動機

過去10年間、gene for gene theoryに基づく植物抵抗性遺伝子(*R*)と病原体側の非病原性遺伝子(*Avr*)の解析が急速に進み顕著な成果が蓄積された。しかし、現在、*R/Avr*遺伝子の働きだけでは、感染の特異性を説明できないことが次第に認識されつつある。また、病原微生物のシグナル分子に対する植物の情報伝達系も全容が明らかとはなっていない。さらに、感染の成否の指標とされる応答も、結果的、派生的な事象を見ている例も少なくなかった。この原因には、これまでの研究が組織や細胞集団を用いたマクロな解析が主流で、異なる機能を担うオルガネラに注目していなかったことにある。

本研究は、病原微生物によって制御される植物感染の成否のメカニズムと情報伝達系を植物のオルガネラ及びオルガネラ間のクロストークという切り口で解明するものである。これまでの防御応答機構に関する研究は、組織や細胞集団を用いたマクロな解析が主流であった。しかし、これまでの申請者らの研究から、植物は、外界からの異物をまず細胞表層のオルガネラ「細胞壁」で認識し、細胞膜上のインテグリン様分子を介してポリホスホイノシチド代謝系を活性化し、アクチン繊維を経由して内部(核)に情報を伝え、遺伝子応答(特に翻訳過程)を制御していることを明かにしてきた。このように、情報の概括を見るだけでも、従来のマクロな解析では、緻密な情報が得られないことは明かである。

2. 研究の目的

そこで本研究では、病原微生物シグナル分子と複数のモデル植物を用いて、感染の成否と密接にリンクした活性酸素生成、イオンフラックス及び環境応答遺伝子群の発現を指標に、a)オルガネラ(細胞壁、細胞膜、液胞/小胞体)に存在するイオン輸送分子のシグナル応答とクロストークに関する解析、b) オンオフ制御されたオルガネラと核(遺伝子応答)とのクロストークに関する解析、c) エネルギー生産系オルガネラ(クロロプラストやミトコンドリア)のシグナル応答性と防御応答に果たす役割並びに他のオルガネラとのクロストークに関して分子生物学的、分子遺伝学的にアプローチを試みた。以上の解析によって、異物認識から細胞応答に至る各オルガネラの役割を解明し、植物分子細胞病理学の構築を目指すとともに、耐病性分子育種への提言も行った。

3. 研究の方法

- 1) 電顕解析による病原菌シグナル応答におけるオルガネラネットワークの構築。
- 2) 分子生物学的手法によるシグナル標的タンパク分子、標的遺伝子の特定。
- 3) 分子植物病理学的手法による形質転換植物を用いた機能・耐病性解析。

4. 研究の主な成果

本研究課題では、

- 1) 感染サイクルの大半を細胞外(植物表面や細胞間隙)で営む病原糸状菌や細菌をモデルとして、分子パターン認識と病原性エフェクターの作用機構について解析し

た。糸状菌由来エフェクター（サブプレッサー）の分子標的である宿主植物の細胞壁アピラーゼの相互作用分子の解析を進め、複数の情報伝達や酸化還元関連分子の存在を示した。また、表層でのパターン認識に続く過敏細胞反応の分子機構について、エリシチンをモデルに解析した結果、細胞周期（M期）制御系の構成因子 NbCdc27Bは過敏細胞死が関与しない抵抗性に抑制的に働くことを示した。

2) 一方、細菌由来 MAMPs（フラジェリン）による下流の情報伝達・遺伝子応答について、マイクロアレーで解析したところ、フラジェリン処理で急速に発現が誘導される転写因子 *WRKY41* を同定した。*WRKY41* 高発現体では *Pseudomonas syringae* に対する抵抗性が增強されたが、逆に *Erwinia carotovora* に対する感受性は高まった。この結果は、*WRKY41* は SA 系に対して正に作用していることを示している。

3) さらに、防御応答に対して、小胞体輸送系 *Rer1* は負、葉緑体 *Lox* は負、また、ATP プロテアーゼ *FtsH2* の欠損変異株 *var2* が *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 に対して抵抗性を示すことから、この遺伝子も抵抗性を負に制御することが明らかとなった。

以上のように、細胞壁には植物独自の異物認識機構が存在し、細胞壁始発のシグナルは感染防御の最前線を担う様々なオルガネラへ情報伝達される。従ってパターン認識後の情報伝達は多様であり、正あるいは負に調節する固有の細胞内因子が各オルガネラへ情報を伝達し、最終応答（抵抗性発現）が決定されると考えられた。このことは、最初の MAMPs 認識の場であるアポプラストの標的分子の改変によって広範な抵抗反応を誘導できることを示しており、実際、細胞外分泌型 apyrase の高発現形質転換体が、菌類病のみならず細菌病に対しても抵抗性を獲得することを発見できた（ネットワークは下図参照）。

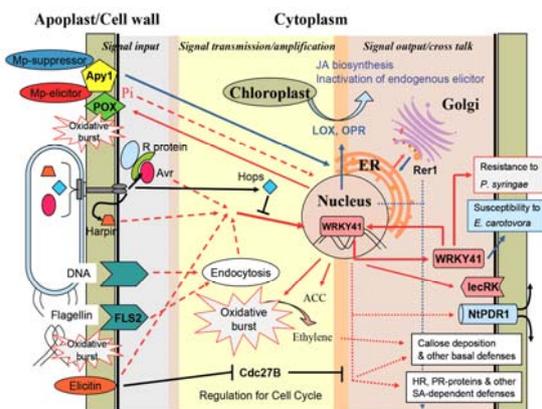


図 抵抗性制御における小器官のネットワーク



写真 細胞壁 apyrase 高発現タバコの抵抗化。

左: 高発現体、右: 対照。主脈の右側にタバコ野火病菌を接種して5日後。主脈右側は緩衝液処理。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

オルガネラネットワークの視点から、感染反応の制御機構を解き明かす試みは世界的になく、特にこの研究で、植物最外層のオルガネラ「細胞壁」の異物認識と感染応答への重要な働きや、また、葉緑体 *Lox*、小胞体 *Rer1* による抵抗性の負の制御など世界に先駆けて重要な発見があった。今後メタボロミクスレベルから細胞内小器官のリンケージを解明する必要がある。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

- Higashi, K., Ishiga, Y., **Inagaki, Y.**, Toyoda, K., **Shiraishi, T.** and Ichinose, Y. (2008) Modulation of defense signal transduction by flagellin-induced *WRKY41* transcription factor in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Genet. Genomics* 279 (3): 303-312.
- Kudo C., Suzuki T., Fukuoka S., Asai S., Suenaga H., Sasabe M., Takano Y., Okuno T., Toyoda K., **Shiraishi T.**, Ichinose Y. and Inagaki Y. (2007) Suppression of *Cdc27B* expression induces plant defence responses. *Mol. Plant Pathol.* 8 (4): 365-373.
- Kiba, A., Toyoda, K., Yoshioka, K., Tsujimura, K., Takahashi, H., Ichinose, Y., Takeda, T., Kato, T. and **Shiraishi, T.** (2006) A pea NTPase, PsAPY1, recognizes signal molecules from microorganisms. *J. Gen. Plant Pathol.* 72 (4): 238-246.
- Taguchi, F., Ogawa, Y., Takeuchi, K., Suzuki, T., Toyoda, K., **Shiraishi, T.** and Ichinose, Y. (2006) A homologue of the 3-oxoacyl-(acyl carrier protein) synthase III gene located in the glycosylation island of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* regulates virulence factors via *N*-acyl homoserine lactone and fatty acid synthesis. *J. Bacteriol.* 188 (24): 8560-8572.
- Matsui, H., Nakamura, G., Ishiga, Y., Toshima, H., Inagaki, Y., Toyoda, K., **Shiraishi, T.** and Ichinose, Y. (2004) Structure and expression of 12-oxophytodienoate reductase (subgroup I) genes in pea, and characterization of the oxidoreductase activities of their recombinant products. *Mol. Genet. Genomics* 271 (1): 1-10.

(査読付原著論文：合計31報)

ホームページ等

www.okayama-u.ac.jp/user/agr/nougaku0203.htm, www.okayama-u.ac.jp/user/agr/nougaku0201.htm