

植物における免疫活性化機構と病原体による免疫抑制化機構の 解明

Molecular mechanisms of plant immunity
and its suppression by pathogens

白須 賢 (SHIRASU KEN)

独立行政法人理化学研究所 植物科学研究センター 植物免疫研究グループ



研究の概要

本研究では植物免疫シグナル伝達系の重要タンパク質、及びその複合体の同定、そしてその構造決定をし、その制御機構の分子メカニズムをタンパク質レベルで明らかにすることを主目的とする。また病原体由来のエフェクタータンパク質を同定し、その構造を決定して、その免疫抑制機能を明らかにする。

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：遺伝子、ゲノム、シグナル伝達、植物、生理学

1. 研究開始当初の背景

動植物はウイルス、細菌、糸状菌、線虫などの様々な病原体の脅威に常にさらされている。これまでに植物の自然免疫系に関与する遺伝子群は数多く単離されている。しかしながら、これらの遺伝子の産物であるタンパク質の機能は不明なものがほとんどであり、生化学的な免疫活性化機構と病原体による免疫抑制化機構は依然として遺伝学的な解釈（必要か必要でないか、あるいはアミノ酸配列から予想される機能の推測）にとどまっていた。

2. 研究の目的

本研究では植物免疫シグナル伝達系の重要タンパク質、及びその複合体の同定そしてその構造決定をし、その制御機構の分子メカニズムを明らかにすることを主目的とする。さらに、病原体由来のエフェクタータンパク質の構造を決定し、その免疫抑制機能を明らかにする。

3. 研究の方法

ゲノム情報を駆使した逆遺伝学的機能解析やタンパク質相互作用を利用したプロテオーム的タンパク質同定技術を用いて、新規の植物免疫シグナル伝達系の重要タンパク質や複合体を同定し、ハイスループットの可溶性タンパク質スクリーニングで構造解析用のタンパク質候補を絞り込む。さらにNMRやX線結晶解析をもちいて構造を決定する。また構造をベースに変異体を作成し、その生物学的、生化学的機能を解析する。

4. これまでの成果

RAR1、SGT1、HSP90 からなる植物免疫シャペロン複合体は、研究代表者らによる研究によりその植物免疫シグナルにおける重要性が示されていたが、本研究により、世界で初めてそのシャペロン複合体のコア構造が明らかになった (Kadota et al EMBO R 2008, Zhang et al EMBO J 2008, Shirasu Annu Rev Plant Biol 2009, 論文投稿中) X線結晶解析で明らかになったその構造はRAR1、SGT1、HSP90の二量体ずつの六量体であった。この構造からRAR1とSGT1がともに協調してHSP90の二量体を開いた形を維持することがわかった。さらにこの構造をベースに変異体を作成し、この複合体形成が免疫レセプターであるNLRタンパク質をシャペロン複合体へ運び込み、さらにはその安定的な維持に必要なことが明らかになった。SGT1-HSP90はヒトの自然免疫レセプターに重要であることがわかってきていることから、この構造解析がヒトの免疫シグナル研究にも大きく貢献すると考えられる。

シロイヌナズナにおける植物免疫に関与するタンパク質の探索を広く行った。特に発現解析をベースにした逆遺伝学的解析や機能発現スクリーニングなどから、U-boxタイプのE3ユビキチンリガーゼ (Trujillo et al Curr Biol 2008) やATGオートファジー構成遺伝子 (Yoshimoto et al Plant Cell 2009) が植物免疫を負に制御していることを明ら

かにした。

5. 今後の計画

可溶性が確認できないタンパク質サンプルに関しては、重要と思われるものからドメインごとのスクリーニングや、N 末、C 末からの欠損型を可溶性スクリーニングにかける。RAR1-SGT1-HSP90 の免疫複合体に関してはタグをつけて免疫沈降法によって同定したタンパク質の解析をさらに進める。シロイヌナズナで多重変異 KO 体を作成し、モデル病原菌などを接種してそのタンパク質をコードする遺伝子の植物免疫との関係を明らかにする。病原体エフェクターに関してはその構造から予想される表層のアミノ酸を変換しその機能を明らかにする。具体的には植物体内における免疫反応抑制効果の有無、免疫システムからの認識部位の同定、植物作用部位の特定、植物内ターゲットの同定、タンパク修飾の有無などを中心に機能解析を進める。またこれに必要なタンパク質同定技術を向上し定量解析にまで精度を高める。さらに構造解析を行うタンパク質のプールを広げるために、ゲノム情報あるいは機能スクリーニング情報を利用した逆遺伝学的機能解析も進める。状況によっては新規のゲノム情報あるいは EST 情報を獲得する。

6. これまでの発表論文等

発表論文

A full-length enriched cDNA library and expressed sequence tag analysis of the parasitic weed, *Striga hermonthica*. Yoshida S., Ishida K J., Kamal M N., Ali M A, Namba S. and Shirasu K. **BMC Plant Biology** 10:55(2010)

NLR sensors meet at the SGT1HSP90 crossroad. Kadota Y., Shirasu K. and Guerois R. **Trends in Biochem. Sci.** 35:199-206(2010)

Autophagy Negatively Regulates Cell Death by Controlling NPR1-Dependent Salicylic Acid Signaling during Senescence and the Innate Immune Response in Arabidopsis. Yoshimoto K., Jikumaru Y., Kamiya Y., Kusano M., Consonni C., Panstruga R., Ohsumi Y. and Shirasu K. **Plant Cell** 60:218-226(2009)

Multiple layers of incompatibility to the parasitic witchweed, *Striga hermonthica*. Yoshida, S. and Shirasu, K. **New Phytologist** 183(1):180-189(2009)

The HSP90-SGT1 Chaperone Complex for NLR Immune Sensors. Shirasu, K. **Annual Review of Plant Biology** 60:139-164 (2009)

Structural and functional analysis of SGT1-HSP90 core complex required for innate immunity in plants. Kadota, Y., Amigues, B., Ducassou, L., Madaoui, H., Ochsenbein, F., Guerois, R. and Shirasu, K. **EMBO reports** 9:1209-1215(2008)

Structural and functional coupling of Hsp90- and Sgt1-centred multi-protein complexes. Zhang, M., Boter, M., Li, K., Kadota, Y., Panaretou, B., Prodromou, C., Shirasu, K. and Pearl, L. **EMBO J.** 27:2789-2798(2008)

Negative regulation of PAMP-triggered immunity by E3 ubiquitin ligase triplet in Arabidopsis. Trujillo, M., Ichimura, K., Casais, C. and Shirasu, K. **Current Biology** 18:1396-1401(2008)

Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., Yoneyama, K., Kyojuka, J. and Yamaguchi, S. **Nature** 455(7210):195-200(2008)

Large-scale phosphorylation mapping reveals the extent of tyrosine phosphorylation in Arabidopsis. Sugiyama, N., Nakagami, H., Mochida, K., Daudi, A., Tomita, M., Shirasu, K. and Ishihama, Y. **Molecular Systems Biology** 4:193(2008)

Takahashi, F., Ichimura, K., Shinozaki, K., and Shirasu, K. (2009) Plant Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades in Signaling Crosstalk, In "Signal Crosstalk in Plant Stress Responses" Keiko Yoshioka and Kazuo Shinozaki eds: pp.23-38, Wiley-Blackwell.

ホームページ等

<http://ksg.psc.riken.jp/index.ja.html>

<http://twitter.com/ShirasuLab>