

# 植物の生物ストレス応答の解析とその利用

## Analysis and Application of Genes Responsive to Biological Stresses in Plants

(研究プロジェクト番号 : JSPS-RFTF 96L00603)

### プロジェクトリーダー

三瀬 和之 京都大学大学院農学研究科・助教授

### コアメンバー

石川 雅之 北海道大学大学院農学研究科・助教授

白石 友紀 岡山大学農学部・教授

高林 純示 京都大学生態学研究センター・教授



## 1. 研究目的

本研究プロジェクトでは、21世紀に安定した食糧供給を図るため、ニューバイオテクノロジーを利用して、植物に病原体や害虫等の生物ストレスへの耐性を付与し、作物保護を行うことを目指した。そのため、以下の3つの観点からの研究を推進した。

- (1) 植物ウイルスの増殖に関する宿主因子の同定・相互作用の解明とその利用(三瀬和之・石川雅之)
- (2) 植物の病原菌環境に対する応答機構の解明とその応用(白石友紀)
- (3) 植食者加害ストレスによって植物が生産する情報シグナル物質の生態系での機能解析(高林純示)

## 2. 研究成果概要

### 2.1 植物ウイルスの増殖に関する宿主因子の同定・相互作用の解明とその利用

ブロムモザイクウイルス (BMV) の感染拡大には、移行タンパク質 (MP) 遺伝子と外被タンパク質 (CP) 遺伝子が関与しており、それらウイルス遺伝子産物と宿主植物因子間で相互作用があることが示唆されてきた。本研究では、BMV の MP 遺伝子中の特定の部位がウイルスの宿主特異性に重要であることを明らかにした<sup>1)</sup>。CP 遺伝子にミスセンス変異を導入した変異体 BMV の感染性解析から、CP の C 端は粒子化に加え他のウイルス因子や宿主植物因子との相互作用に関与することを明らかにした<sup>2)</sup>。酵母 Two-hybrid 法を用いて、CP と直接的に結合するオオムギ宿主因子の遺伝子 *Hcp1*、*Hcp2* および *Hcp3* をクローニングした。上記の CP 変異体の解析から、BMV がオオムギに全身感染するには HCP1 タンパク質と CP との直接的な結合が必要であることを明らかにした (図 1)。

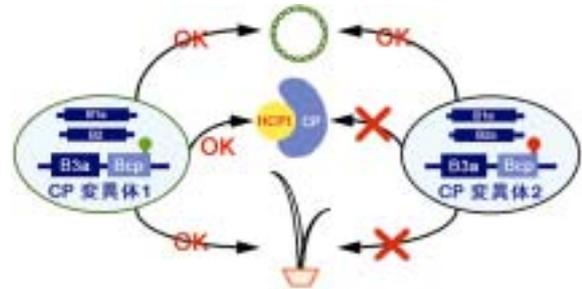


図 1. HCP1 / CP 間の結合と BMV 感染性の相関

また、シロイヌナズナ・タバコモザイクウイルス (TMV) の系を用い、ウイルス増殖に関する宿主因子の遺伝学的な同定を試みた。その結果、TMV の一細胞内での増殖が抑制されるシロイヌナズナ *tom1* および *tom2* 変異株が単離された<sup>3)</sup>。TOM1 遺伝子をクローン化し、それが TMV にコードされた RNA 複製に関与する蛋白質と相互作用する複数回貫通型膜蛋白質をコードすることを明らかにした<sup>4)</sup> (図 2)。*tom1* 変異株で見られる TMV の低レベルの増殖は TOM1 遺伝子のホモログ TOM3 に完全に依存することを明らかにした。*tom2* 変異には 2 つの独立の遺伝子 (TOM2A、TOM2B) が関与することを明らかにした。TOM2A は TOM1 と同様に複数回貫通型膜蛋白質をコードし、TOM2B は機能既知の蛋白質とは顕著なアミノ酸配列の相同性を示さない小さなポリペプチドをコードすることを明らかにした。

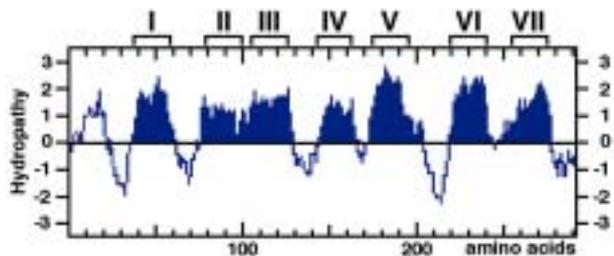


図 2. TOM1 タンパク質の疎水性プロット

## 2.2 植物の病原菌環境に対する応答機構の解明とその応用

植物防御応答を制御する病原菌シグナルの初期認識・受容機構と防御応答に至る情報伝達系を解析し、防御応答のスイッチとなる分子装置の特定を試みた。その結果、植物細胞壁は、病原シグナルの第一義的認識の場であり、活性酸素生成を伴う第1次防御応答を担うことが強く示唆された。この認識装置は、少なくとも NTPase と peroxidase から構成され、さらに、種々の酸化還元酵素群が制御されることも明らかとなった(図3)。細胞壁から細胞内部への情報伝達系には、RGD 配列を介して結合する細胞外マトリックスと原形質膜インテグリン様蛋白質<sup>5)</sup>、原形質膜におけるポリホスホイノシチド代謝系の活性化とその結果生成するジアシルグリセロール<sup>6)</sup>、また、原形質膜から核やポリゾームへ配向するアクチンストレスファイバーを介した情報伝達系の存在が強く示唆された(図3)。

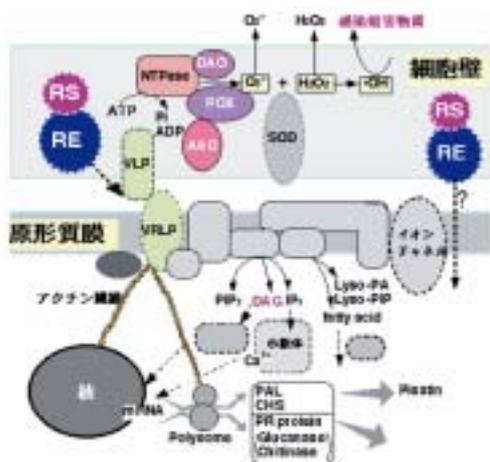


図3. エンドウ防御応答情報伝達系の概念図

## 2.3 植食者加害ストレスによって植物が生産する情報シグナル物質の生態系での機能解析

植物が植食者に加害されると、そのストレスが刺激となり、特別な匂い物質(情報シグナル物質)を生産し、植食者の捕食性天敵を誘引することが、明らかにされてきた。本研究では、被害植物が生産する情報シグナル物質生産のメカニズムと、その生態系内での多様な機能の解析とその利用の可能性を検討した。その結果、ジャスモン酸およびサリチル酸シグナル伝達系が植物の天敵誘引シグナル生産に関与していることを明らかにした(図4)。ハダニ被害植物から生産される植物情報シグナルが、未被害の同種植物(他個体)に影響し、未被害植物における防衛遺伝子を活性化することをリママメで示した(植物間のコミュニケーション)<sup>7)</sup>(図4)。さらにその様な情報シグナルによって活性化される遺伝子を網羅的に解析した。ジャスモン酸を植物に処理することにより、匂いシグナル生産性が向上することを明らかにした。

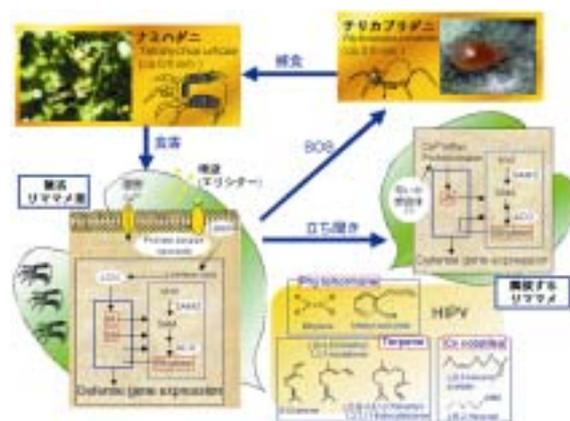


図4. 害虫が誘導する植物揮発性シグナルの生産メカニズムとその様々な機能

## 3. 結論

植物ウイルスの効率のよい増殖に必須な植物遺伝子を初めてクローン化した。植物の防御応答に至る情報伝達系について細胞壁から核に至る概要を明らかにできた。植物情報シグナルの生態系内での多様な機能の解析とその利用の可能性を明らかにした。

## 主な発表論文

- (1) N. Sasaki, Y. Fujita, K. Mise and I. Furusawa: "Site-specific single amino acid changes to Lys or Arg in the central region of the movement protein of a hybrid bromovirus are required for adaptation to a nonhost," *Virology*, **279** (2001) 47-57.
- (2) Y. Okinaka, K. Mise, E. Suzuki, T. Okuno and I. Furusawa: "The C-terminus of *Brome mosaic virus* coat protein controls viral cell-to-cell and long-distance movement," *J. Virol.*, **75** (2001) 5385-5390.
- (3) K. Ohshima, T. Taniyama, T. Yamanaka, M. Ishikawa and S. Naito: "Isolation of a mutant of *Arabidopsis thaliana* carrying two simultaneous mutations affecting tobacco mosaic virus multiplication within a single cell," *Virology*, **243** (1998) 472-481.
- (4) T. Yamanaka, T. Ohta, M. Takahashi, T. Meshi, R. Schmidt, C. Dean, S. Naito and M. Ishikawa: "*TOM1*, an *Arabidopsis* gene required for efficient multiplication of a tobamovirus, encodes a putative transmembrane protein," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97** (2000): 10107-10112.
- (5) A. Kiba, M. Sugimoto, K. Toyoda, Y. Ichinose, T. Yamada and T. Shiraishi: "Interaction between cell wall and plasma membrane via RGD motif is implicated in plant defense responses," *Plant Cell Physiol.*, **39** (1998) 1245-1249.
- (6) K. Toyoda, T. Kawahara, Y. Ichinose, T. Yamada and T. Shiraishi: "Potentiation of phytoalexin accumulation in elicitor-treated epicotyls of pea by a diacylglycerol kinase inhibitor," *J. Phytopathology*, **148** (2000) 633-636.
- (7) G. Arimura, R. Ozawa, T. Shimoda, T. Nishioka, W. Boland and J. Takabayashi: "Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves," *Nature*, **6795** (2000) 512-515.