

Rac GTPase を介した植物免疫の分子機構の解明 Molecular basis of Rac GTPase in plant innate immunity



島本 功 (Shimamoto Ko)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究の概要

本研究課題では、植物自然免疫機構の中核であると言える、病原体認識機構および信号伝達の分子機構をタンパク質間相互作用から得られた耐病性関連タンパク質の分子ネットワークの解析を通じて明らかにする。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：植物免疫

1. 研究開始当初の背景

植物は病原微生物の侵入を認識し、自らもっている様々な抵抗性反応を発動させ、病原体の増殖を防ぐことができる。植物がどのように病原体シグナルを認識し、下流の信号伝達系を活性化しているかについては殆ど明らかにされていない。また、耐病性シグナルの情報伝達機構については、申請者らを含めたグループにより、Gタンパク質やプロテインキナーゼの関与が明らかにされているが、まだその詳細な分子機構はわかっていなかった。

2. 研究の目的

イネの低分子量Gタンパク質 OsRac1 がタンパク質複合体を形成し、病原菌認識からシグナル伝達に至る重要な過程を担っているという結果を得ている。我々は、この OsRac1 を含むタンパク質複合体を「Defensome」と名付けた。本研究では、Defensome のタンパク質間相互作用ネットワークを明らかにすることにより、耐病性シグナル伝達に関わるタンパク質複合体の機能を解明することを試みる。

3. 研究の方法

- 1) OsRac1 と R タンパク質の相互作用と病原体認識機構の解析
- 2) OsRac1 ファミリーの活性化因子(GDP-GTP 交換因子:GEF)の解析
- 3) FRET 技術を用いた OsRac1 の活性化機構

の解析

- 4) OsRac1 を含む免疫複合体 Defensome の構成因子の相互作用のダイナミズム
- 5) FRET による Defensome の動態の時間的・空間的解析

4. これまでの成果

1) R タンパク質の機能に関する新規な発見

抵抗性 (R) タンパク質は、病原体の侵入を感知する細胞内レセプターとして働き、植物の自然免疫において極めて重要な分子である。しかしながら、R タンパク質がどのようなシグナル分子を介して植物の免疫を誘導するかは不明であった。我々は、イネのいもち病菌の R タンパク質 Pit が G タンパク質 OsRac1 に直接結合し、OsRac1 を活性化することを見出した (図1)。また、Pit は、OsRac1 を活性化することにより、活性酸素や過敏細胞死を制

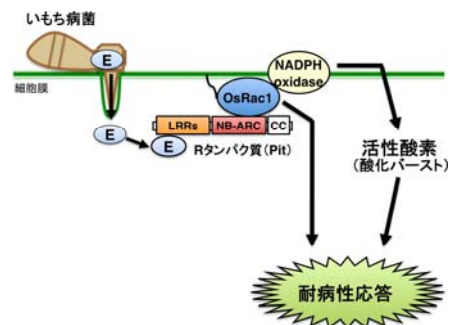


図1. Rタンパク質 (Pit)によるOsRac1の活性化

御して、いもち病に対する抵抗性を制御することを明らかにした (Kawano et al., Cell Host Microbe, under revision)。本研究成果は、世界に先駆けて R タンパク質による耐病性誘導の分子メカニズムを明らかにしたものである。

2) 細胞膜貫通型免疫レセプターの成熟と細胞内輸送に関する新規な発見

細胞膜貫通型免疫レセプターは、細胞膜上に局在するが、それらの輸送機構や成熟機構はほとんど明らかになっていない。我々は、Defensome の構成タンパク質である Hop/Stil と Hsp90 がキチンレセプターに直接結合することを見出した (Chen et al., Cell Host Microbe, 2010)。また、Hop/Stil の RNAi によりキチンレセプターの局在異常が観察され、いもち病菌に対する抵抗性が抑制されることを明らかにした (図2)。したがって、Hop/Stil がキチンレセプターに直接結合し、ER から細胞膜への輸送あるいは、ER での成熟に関与することが示唆された。Hop/Stil が現在不明である植物の病原体レセプターの輸送機構や成熟機構の解明の分子基盤となる可能性が高い。

3. イネの免疫反応を制御するDefensomeモデルの構築

プロテオーム解析により、OsRac1 複合体 Defensome を構成する因子として、RAR1, Hsp90, RACK1, Hop/Stil を同定し、それらのタンパク質が耐病性において重要な役割を果たすことを明らかにした (Thao et al., Plant Cell, 2007; Nakashima et al., Plant Cell, 2008; Fujiwara et al., Plant Cell Physiol., 2009; Chen et al., Cell Host Microbe, 2010)。さらに、バイオイメージングを駆使した結果、OsRac1 が細胞膜貫通型レセプター (CERK1) や R タンパク質 (Pit) などの病原体レセプターと結合することを見出した。

生化学的な解析の結果、OsRac1 は自身の活

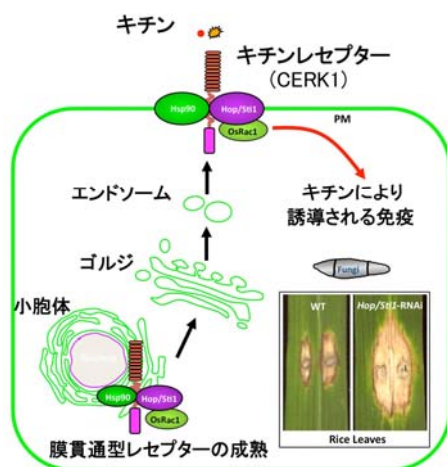


図2. Hop/Stil シヤペロン複合体がレセプターの成熟と細胞内輸送に重要

性化に依存して高分子の複合体を形成することが明らかになった。この結果から、直接的に OsRac1 がタンパク質複合体を形成することが証明できた。本研究のスタート時点では、不明瞭であった OsRac1 を含むタンパク質複合体 Defensome の分子実体を明らかにしつつある (図3)。

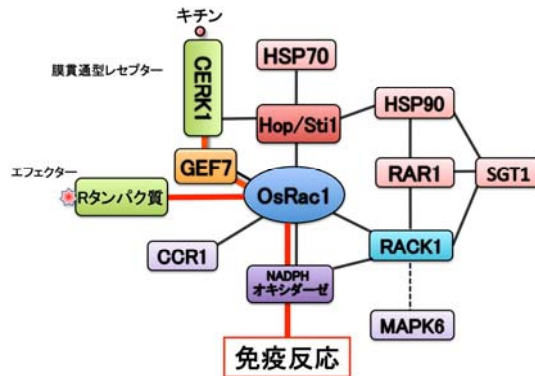


図3. イネの免疫反応を制御するDefensomeモデル 5. 今後の計画

本研究課題では、申請時に5つの視点から解析を行うことを目標とした。いずれの解析も順調に研究が進展しており当初の目的を達成している。今後も、遺伝学、分子生物学、細胞生物学、生化学などの様々な手法を駆使して、OsRac1 を中心とするタンパク質複合体 Defensome の植物自然免疫応答における役割の解析を行う。

6. これまでの発表論文等

- Chen et al., *Cell Host Microbe*, 7: 185-96. (2010)
- Fujiwara et al., *J. Biol. Chem.*, 285: 11308-13. (2010)
- Chen et al., *Plant Cell. Physopl.*, in press. (2010)
- Wong and Shimamoto, *Science Signal.*, 2: pe60. (2009)
- Fujiwara et al., *Plant Cell Physiol.*, 50: 1191-1200. (2009)
- Nakashima et al., *Plant Cell*, 20: 2265-2279. (2008)
- Wong et al., *Plant Cell*, 19: 4022-4034. (2007)
- Thao et al., *Plant Cell*, 19: 4035-4045. (2007)
- 河野、島本、蛋白質 核酸 酵素 増刊 (2010) 印刷中
- 藤原、島本、化学と生物 47: 378-380 (2009)
- Wong ら、実験医学 増刊 27: 80-83 (2009)

ホームページ等

<http://bsw3.aist-nara.ac.jp/simamoto/simamoto.html>

<http://www.kippo.or.jp>