

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06407

研究課題名(和文)植物宿主特異的毒素における化学コミュニケーションの理解と制御

研究課題名(英文)Studies on chemical communication on host-selective toxins

研究代表者

上田 実(Ueda, Minoru)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60265931

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 58,600,000円

研究成果の概要(和文):植物ホルモンジャスモン酸イソロイシン(JA-Ile)は、植物の生存と成長に欠かせない多くの機能を制御する。本研究では、JA-Ileの構造的ミミックである植物毒素コロナチンをベースとして、その16種類の立体異性体ライブラリーを作成し、共受容体に対する親和性を評価した。その結果、立体異性体の中にはサブタイプ親和性を持つリガンドが含まれることが分かった。また植物宿主特異的毒素に関するアミノ酸置換体ライブラリーを作成し、モデル植物でも効果を持つプローブ分子の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物毒素コロナチンをベースとした立体異性体ライブラリーは、シロイヌナズナ、トマト、イネの3種の共受容体に対してユニークなサブタイプ選択性を示した。これを用いた受容体サブタイプに特異的な遺伝子発現とシグナル伝達機構を解析は、従来、遺伝的冗長性のために解析が遅れていた植物ホルモンのシグナル伝達解析に新たな方法論を提供する画期的な成果となった。今後は、食糧資源として重要であるが、より複雑な共受容体系を持つ単子葉植物へ、本方法論の適用を検討する。これによって、単子葉植物での重複遺伝子の機能解析に成功すれば、大きなインパクトを期待できる。

研究成果の概要(英文):The plant hormone jasmonic acid isoleucine (JA-Ile) regulates many functions essential for plant survival and growth. In this study, we created a library of 16 stereoisomers of JA-Ile based on its structural mimic, the phytotoxin coronatine, and evaluated their affinities for co-receptors. The results showed that some of the stereoisomers contain ligands with subtype affinity.

We also created a library of amino acid substitutions related to plant host-specific toxins and succeeded in developing probe molecules that are effective in model plants. Using this library, we have proposed a new model in which reactive oxygen species are involved in the mechanism of action of host-specific toxins

研究分野：天然物ケミカルバイオロジー

キーワード：植物ホルモン ジャスモン酸 受容体 遺伝的冗長性 立体異性体 アゴニスト

1. 研究開始当初の背景

本研究では、植物-微生物間の化学コミュニケーションに注目し、これにかかわる生物活性天然物をツールとして用いるケミカルバイオロジー研究を行う。植物病原菌感染には、植物の免疫力を抑制する低分子毒素が大きな役割を果たす。これには、ほとんどの植物に有効な宿主非選択的毒素と、特定の植物に強力な毒性を発揮する宿主選択的毒素 (**Host selective toxin; HST**) がある。HST 生産株は、通常強力な感染性をもつ。植物病原菌の多くが、特定の植物種にのみ病害を引き起こす明確な宿主選択性を持つ。これは、植物-微生物間において、相手を選択した厳密なコミュニケーションが機能している例である。植物病における宿主選択性にはいくつかの要因が知られているが、日本で発見された天然物リガンド 宿主選択的毒素 (HST: host-selective toxin) は、もっとも重要な因子と考えられている。しかし、その作用機構、宿主選択性の実体解明など、実用的に大きな意味をもつ部分は未解明である。これは、遺伝学的研究資源が豊富なモデル植物に対する HST が知られていないため、遺伝学による研究手法を適用できないことも原因である。本研究では、二十世紀ナシの果実、葉、枝に黒色斑点(壊死斑)を生じるナシ黒斑病菌(*Alternaria alternata* Japanese pear pathotype) が産生する HST、AK-toxin を含むいくつかの HST に共通に見られるエポキシデカトリエンカルボン酸 (EDA) 構造をベースとした構造展開により、モデル植物に有効な類縁体を開発し、毒性発現と宿主選択性に関する長年の謎を解明する。また、宿主非選択的毒素コロナチンに関してもこれを用いる植物免疫作用調節剤の開発を検討する。これらの研究を通じて、植物-微生物間の化学コミュニケーションの実体解明と化学的制御を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、植物-微生物間の化学コミュニケーションに注目し、これにかかわる生物活性天然物をツールとして用いるケミカルバイオロジー研究を行う。植物病原菌感染には、植物の免疫応答の一部を抑制する低分子毒素が大きな役割を果たす。これには、ほとんどの植物に有効な宿主非選択的毒素と、特定の植物に強力な毒性を発揮する宿主選択的毒素 (**Host selective toxin; HST**) がある。HST 生産株は、通常強力な感染性をもつ。HST の同定には日本の研究者も大きな役割を果たしたが、その作用機構、宿主選択性の実体解明など、実用的に大きな意味をもつ部分は未解明である。これは、遺伝学的研究資源が豊富なモデル植物に対する HST が知られていないため、遺伝学による研究手法を適用できないことも原因である。本研究では、いくつかの HST (AK-トキシンなど) に共通に見られるエポキシデカトリエンカルボン酸 (EDA) 構造をベースとした構造展開により、モデル植物に有効な類縁体を開発し、毒性発現と宿主選択性に関する長年の謎を解明する。また、宿主非選択的毒素は、幅広い植物種の免疫応答を制御する機能を持っており、これを用いる植物の病原菌感染耐性を向上させる分子技術の開発を検討する。これらの研究を通じて、植物-微生物間の化学コミュニケーションの実体解明とその化学的制御を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、JA-IIe の構造的ミミックである植物毒素コロナチンをベースとして、その 16 種類の立体異性体ライブラリーを化学合成で作り、共受容体に対する親和性を評価した。また、植物個体表現型への効果、網羅的遺伝子発現解析、タンパク質間相互作用解析などに

よって活性を評価した。

また植物宿主特異的毒素に関するアミノ酸置換体ライブラリーを化学合成によって作成し、各種モデル植物（イネ、シロイヌナズナ）への投与による病変誘導効果を評価した。

4．研究成果

植物ホルモン ジャスモン酸イソロイシン (JA-Ile) は、植物の生存と成長に欠かせない多くの機能を制御する。JA-Ile は、植物の外敵防御や二次代謝産物生産など人類にとって有益な作用を引き起こすと共に、成長阻害など望ましくない「副作用」も誘導する。この多機能性は、植物内に数多く存在する JA-Ile 受容体サブタイプが、各々異なる機能を分担して制御していることに由来する。本研究では、JA-Ile 受容体のサブタイプ選択的な活性化を可能とするリガンド分子を開発した。具体的には、JA-Ile の構造的ミミックである植物毒素コロナチンをベースとして、その 16 種類の立体異性体ライブラリーを作成し、シロイヌナズナ、トマト、イネの 3 種の共受容体に対する親和性を評価した。その結果、立体異性体の中にはユニークなサブタイプ親和性を持つリガンドが含まれることが分かった。これらのリガンドの、植物個体表現型への効果、遺伝子発現への効果などを網羅的に解析することで、受容体サブタイプに特異的な遺伝子発現とシグナル伝達機構を解析することに成功した。これらの成果は、従来、遺伝的冗長性のために解析が遅れていた植物ホルモンのシグナル伝達解析に新たな方法論を提供する画期的な成果となった。今後は、食糧資源として重要であるが、より複雑な共受容体系を持つ単子葉植物へ、本方法論の適用を検討する。これによって、単子葉植物での重複遺伝子の機能解析に成功すれば、大きなインパクトを期待できる。

また植物宿主特異的毒素に関するアミノ酸置換体ライブラリーを作成し、モデル植物でも効果を持つプローブ分子の開発に成功した。これを用いることで、宿主特異的毒素の作用機構に活性酸素種が関与する新たなモデルを提出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Takaoka Yousuke, Suzuki Kaho, Nozawa Akira, Takahashi Hirotaka, Sawasaki Tatsuya, Ueda Minoru	4. 巻 298
2. 論文標題 Protein-protein interactions between jasmonate-related master regulator MYC and transcriptional mediator MED25 depend on a short binding domain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 101504 ~ 101504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.101504	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Saito Rina, Hayashi Kengo, Nomoto Haruna, Nakayama Misuzu, Takaoka Yousuke, Saito Hiroaki, Yamagami Souhei, Muto Toshiya, Ueda Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Extended JAZ degron sequence for plant hormone binding in jasmonate co-receptor of tomato SIC011-SIJAZ	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-93067-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Kaho, Takaoka Yousuke, Ueda Minoru	4. 巻 2
2. 論文標題 Rational design of a stapled JAZ9 peptide inhibiting protein-protein interaction of a plant transcription factor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 499 ~ 502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CB00204F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 H. Inagaki, *K. Miyamoto, N. Ando, K. Murakami, K. Sugisawa, S. Morita, E. Yumoto, M. Teruya, K. Uchida, N. Kato, T. Kajii, Y. Takaoka, Y. Hojo, T. Shinya, I. Galis, A. Nozawa, T. Sawasaki, H. Nojiri, M. Ueda, K. Okada	4. 巻 12
2. 論文標題 Deciphering of OPDA signaling components in the momilactone producing Moss Calohypnum plumiforme	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Plant Sci.	6. 最初と最後の頁 987
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.688565	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takaoka Yousuke, Nagumo Keina, Azizah Ika Nurul, Oura Saki, Iwahashi Mana, Kato Nobuki, Ueda Minoru	4. 巻 294
2. 論文標題 A comprehensive in vitro fluorescence anisotropy assay system for screening ligands of the jasmonate COI1?JAZ co-receptor in plants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 5074 ~ 5081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.006639	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Nobuki, Miyagawa Saki, Nomoto Haruna, Nakayama Misuzu, Iwashita Makoto, Ueda Minoru	4. 巻 32
2. 論文標題 A scalable synthesis of (+) coronafacic acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chirality	6. 最初と最後の頁 423 ~ 430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chir.23172	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Raku, Kato Nobuki, Hayashi Kengo, Tozawa Sho, Ogura Yusuke, Kuwahara Shigefumi, Ueda Minoru	4. 巻 9
2. 論文標題 Stereoselective Syntheses of all the Possible Stereoisomers of Coronafacic Acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemistryOpen	6. 最初と最後の頁 1008 ~ 1017
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/open.202000210	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takaoka Yousuke, Miyagawa Saki, Nakamura Akinobu, Egoshi Syusuke, Tsukiji Shinya, Ueda Minoru	4. 巻 10
2. 論文標題 Hoechst-tagged Fluorescein Diacetate for the Fluorescence Imaging-based Assessment of Stomatal Dynamics in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62239-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Jianxin, Sakurai Haruka, Kato Nobuki, Kaji Takuya, Ueda Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Syntheses of dinor-cis/iso-12-oxo-phytodienoic acid (dn-cis/iso-OPDAs), ancestral jasmonate phytohormones of the bryophyte <i>Marchantia polymorpha</i> L., and their catabolites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-81575-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 . Takaoka, K. Nagumo, I. N. Azizah, S. Oura, M. Iwahashi, N. Kato, M. Ueda	4. 巻 294
2. 論文標題 A comprehensive in vitro fluorescence anisotropy assay system for screening ligands of the jasmonate COI1-JAZ co-receptor in plants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 5074-5081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.006639.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Minoru, Egoshi Syusuke, Dodo Kosuke, Ishimaru Yasuhiro, Yamakoshi Hiroyuki, Nakano Takeshi, Takaoka Yousuke, Tsukiji Shinya, Sodeoka Mikiko	4. 巻 3
2. 論文標題 Noncanonical Function of a Small-Molecular Virulence Factor Coronatine against Plant Immunity: An In Vivo Raman Imaging Approach	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Central Science	6. 最初と最後の頁 462 ~ 472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscentsci.7b00099	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Shunya, Hamamoto Shin, Moriya Koko, Matsuura Aiko, Sato Yoko, Muto Jun, Noguchi Hiroto, Yamauchi Seiji, Tozawa Yuzuru, Ueda Minoru, Hashimoto Kenji, Koester Philipp, Dong Qiuyan, Held Katrin, Kudla Joerg, Utsumi Toshihiko, Uozumi Nobuyuki	4. 巻 218
2. 論文標題 N-myristoylation and S-acylation are common modifications of Ca ²⁺ -regulated Arabidopsis kinases and are required for activation of the SLAC1 anion channel	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 1504-1521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.15053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tamura Satoru, Okada Maiko, Kato Shigeaki, Shinoda Yasuharu, Shioda Norifumi, Fukunaga Kohji, Ui-Tei Kumiko, Ueda Minoru	4. 巻 8
2. 論文標題 Ouabagenin is a naturally occurring LXR ligand without causing hepatic steatosis as a side effect	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2305 ~ 2310
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-20663-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 M. Ueda, K. Hayashi, S. Egoshi, Y. Ishimaru, Y. Takaoka, K. Dodo, and M. Sodeoka	4. 巻 in press
2. 論文標題 The alkyne-tag Raman imaging of coronatine, a plant pathogen virulence factor, in <i>Commelina communis</i> and the possible mode of action	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Org. Biomol. Chem.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8OB00097B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 上田実
2. 発表標題 然物を用いる植物ホルモンジャスモン酸類シグナル伝達機構の制御
3. 学会等名 新学術領域「生合成リデザイン」第6回公開シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田実
2. 発表標題 天然物をベースとした植物ケミカルバイオロジー
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第14回年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田実
2. 発表標題 生物活性に着目した天然物研究：天然物ケミカルバイオロジーとは何か
3. 学会等名 第54回天然物化学談話会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田実
2. 発表標題 微生物-植物間コミュニケーションの天然物ケミカルバイオロジー
3. 学会等名 微生物ウィーク2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田実
2. 発表標題 生物時計と植物の就眠運動をつなぐイオンチャネルの時間制御
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田実
2. 発表標題 ファイトケミカル天然物化学：ユニークな構造と生物学への展開
3. 学会等名 日本化学会第100春期年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Minoru Ueda,
2. 発表標題 Plant Chemical Biology with Bioactive Natural Products
3. 学会等名 the International Symposium on Systems, Synthetic and Chemical Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高岡 洋輔 (Takaoka Yousuke) (80599762)	東北大学・理学研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	加治 拓哉 (Kaji Takuya) (80835520)	東北大学・理学研究科・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------