

平成 31 年 4 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18834

研究課題名(和文)ホスファチジルイノシトールリン酸から解き明かす炭疽病菌の感染メカニズム

研究課題名(英文)Phosphatidylinositide dynamics during infection of Colletotrichum in plants

研究代表者

島田 貴士 (Shimada, Takashi)

千葉大学・大学院園芸学研究科・助教

研究者番号：10713828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ホスファチジルイノシトールリン酸は生体膜の構成成分であり、細胞機能に必須の脂質である。病原糸状菌である炭疽病菌感染時に、ホスファチジルイノシトール4,5-ビスリン酸(PI[4,5]P2)という微量脂質が、侵入菌糸のまわりに集積することが明らかになった。PI(4,5)P2の合成酵素PIP5Kを過剰発現させると炭疽病菌の感染に弱くなることから、炭疽病菌はPI(4,5)P2が多い侵入菌糸嚢膜を植物側に作らせ、感染に適した環境を作り出していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、炭疽病菌感染のためには、植物細胞内で、微量脂質であるPI(4,5)P2の集積が重要であることが明らかになった。PI(4,5)P2は植物の生存に必須の脂質であるため、炭疽病菌はそのシステムを効率よく乗っ取り、感染を成立させていることが示唆された。炭疽病菌の防除ためには、PI(4,5)P2の量を適切に保つ必要があることが本研究より示された。

研究成果の概要(英文)：Phosphatidylinositides are essential for cellular dynamics of plants. We found that one of Phosphatidylinositides, PI(4,5)P2 accumulated in extra-invasive-hyphal membrane during Colletotrichum infection. Overexpressing PIP5K (an enzyme for PI[4,5]P2 production) caused higher susceptibility to Colletotrichum than wild type. These results suggest that Colletotrichum induces the PI(4,5)P2 production in plants for its infection.

研究分野：植物病理学

キーワード：ホスファチジルイノシトールリン酸 シロイヌナズナ 炭疽病菌 細胞動態

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炭疽病菌は様々な植物に感染する病原系状菌(カビ)であり, 重大な作物病害を引き起こす。炭疽病菌が植物に感染すると, 組織内に侵入菌糸を伸ばして栄養を吸収する。その際, 侵入菌糸は植物側の細胞膜を破壊することなく, 組織に侵入する。この時の, 侵入菌糸を包み込む植物細胞側の生体膜のことを侵入菌糸囊膜と呼ぶ。侵入菌糸囊膜は, 植物と病原系状菌間の相互作用におけるインターフェイスとして機能するため, 病原体感染において重要な役割を果たすと考えられる。しかしながら, 侵入菌糸囊膜の詳しい性質や機能はよくわかっていない。

侵入菌糸囊膜の性質を探るために, 私はホスファチジルイノシトールリン酸という生体膜の微量脂質に着目した。ホスファチジルイノシトールリン酸は細胞内における様々な生理現象に関わり, ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸 (PtdIns[4,5]P₂) など, 様々な分子種が存在する。

申請者は PtdIns(4,5)P₂ の細胞内における局在を可視化したシロイヌナズナ形質転換体や, PtdIns(4,5)P₂ の合成酵素・ホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼ(PIP5 キナーゼ)の可視化シロイヌナズナ, PIP5 キナーゼの過剰発現シロイヌナズナを作出している。これらの植物を用いた観察から, 以下のことを発見している。

1. アブラナ科野菜類炭疽病菌を感染させたシロイヌナズナの侵入菌糸囊膜には PtdIns(4,5)P₂ と PIP5 キナーゼが非常に多く集積する。
2. PIP5 キナーゼの過剰発現シロイヌナズナはクワ炭疽病菌に対する抵抗性が低下する。

これらの結果から, PtdIns(4,5)P₂ や PIP5 キナーゼが炭疽病菌が植物に感染する際に重要な役割を果たしていることが示唆された。炭疽病菌は PtdIns(4,5)P₂ が多い侵入菌糸囊膜を作らせることで, より感染しやすい環境を作っているという仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では, 炭疽病菌感染に重要な役割を果たす PtdIns(4,5)P₂ と PIP5 キナーゼの動態に着目し, 炭疽病菌の新しい感染メカニズムを明らかにすることを目指した。

侵入菌糸囊膜の性質をさらに追究するために, 侵入菌糸囊膜に局在する新たな因子の探索を行った。病害抵抗性に関して, アブラナ科野菜類炭疽病菌に対する抵抗性を評価することで, PtdIns(4,5)P₂ の病害応答への寄与をさらに詳細に調べた。発展性のある課題として, PtdIns(4,5)P₂ の分解酵素である 5 ホスファターゼの過剰発現体を作成して, 炭疽病菌感染に強い植物の作出を行う。

本研究から得られた成果をもとに, 炭疽病菌の病害応答に関する新しい生理応答を発見する。

3. 研究の方法

私は, 炭疽病菌が PtdIns(4,5)P₂ の多い侵入菌糸囊膜を作らせることで, 様々な因子を侵入菌糸囊膜に呼び寄せ, 植物組織内に侵入するという仮説を考えた。

PIP5 キナーゼに結合すると予測される因子から, Exocyst complex (X. Xiong et. al. 2012) のタンパク質, 糖トランスポーター-SWEET (L. Chen et. al. 2010), さらにアクチン繊維に着目して解析を行った。

PIP5 キナーゼ過剰発現により, アブラナ科野菜類炭疽病菌に対する抵抗性はどのようになるのかを観察した。

シロイヌナズナを用いて, 5 ホスファターゼの過剰発現体を作成し, 炭疽病菌の感染実験を行う。

PtdIns(4,5)P₂ が侵入菌糸囊膜に集積するという現象が, 植物に普遍的かどうかを確かめるために, ベンサミアーナタバコとウリ類炭疽病菌の感染系を用いた PtdIns(4,5)P₂ の局在観察を行った。ベンサミアーナタバコに PtdIns(4,5)P₂ の可視化マーカーを発現させ, ウリ類炭疽病菌感染時に形成される侵入菌糸囊膜を観察した。

4. 研究成果

侵入菌糸囊膜に局在する新たな因子を探索したところ, Exocyst complex のひとつである EXO84b が, 侵入菌糸囊膜に集積することが明らかになった。一方, SWEET に関しては, 蛍光可視化ラインの作出に至らなかった。アクチン繊維に関しては, 当初の予想と異なり, アブラナ科野菜類炭疽病菌の感染により, アクチン繊維が断片化するという現象が見られた(後述)。

PIP5 キナーゼ過剰発現体を用いた, アブラナ科野菜類炭疽病菌の感染実験を行った。侵入菌糸を観察したところ, PIP5 キナーゼ過剰発現により侵入菌糸の形成率が上昇することが明らかになった。このことから, PIP5 キナーゼの過剰発現により, 侵入菌糸が組織に侵入しやすい環境に変化していることが示唆された。

シロイヌナズナを用いて, 5 ホスファターゼ過剰発現体の作出に成功した。炭疽病菌の感染実験を行ったものの, 現在, 野生型との明確な病害応答の差は見られていない。

ベンサミアーナタバコとウリ類炭疽病菌の感染系を用いて, PtdIns(4,5)P₂ の動態を観察したところ, シロイヌナズナと同じように, PtdIns(4,5)P₂ は侵入菌糸囊膜に集積した。このことから, PtdIns(4,5)P₂ の集積は, 植物に共通してみられる現象であることが示唆された。さらに, 他の病原体である, ベと病菌やうどんこ病菌を用いて, 吸器囊膜の観察を行ったところ, これらの病原体では PtdIns(4,5)P₂ の集積は見られなかった。このことから, 病原体側から見

ると、PtdIns(4,5)P₂の集積は炭疽病菌特異的である可能性が高いと考えられる。

本研究から新たに判明したこととして、アブラナ科野菜類炭疽病菌の感染により、アクチン繊維が断片化することが明らかになった。病原体の感染によりアクチン繊維が断片化するという現象は、これまでに知られていない。今後は、この現象が炭疽病菌の感染生理にどのように関わるのかを明らかにする。

本研究の成果は、研究論文が2019年4月2日にPlant & cell physiology誌に受理されている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

(査読付き総説 計1件)

1. Takashi L. Shimada, Makoto Hayashi, and Ikuko Hara-Nishimura, Membrane Dynamics and Multiple Functions of Oil Bodies in Seeds and Leaves. Plant Physiology, 176, 199-207. (2018)

()ただし、以下の1報が2019年4月2日に受理されている。

1. Takashi L. Shimada, Shigeyuki Betsuyaku, Noriko Inada, Kazuo Ebine, Masaru Fujimoto, Tomohiro Uemura, Yoshitaka Takano, Hiroo Fukuda, Akihiko Nakano and Takashi Ueda, 'Enrichment of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in the extra-invasive hyphal membrane promotes Colletotrichum infection of Arabidopsis thaliana', Plant & cell physiology (2019, in press)

〔学会発表〕(計17件)

(シンポジウム講演:1件)

1. Takashi L. Shimada, Sterol ester-storage organelles (SE bodies) maintain sterol homeostasis in plants, September, 2018, 第91回日本生化学会大会「脂肪滴のもつ生理機能の新展開:多様性から普遍性を探る, 京都(口頭, 英語)

(国際会議での英語発表:3件)

2. Takashi L. Shimada, Regulation of plant sterol homeostasis by HIGH STEROL ESTER1 and sterol ester bodies, July, 2018, The 23rd International Symposium on Plant Lipids, Yokohama, Japan (Oral)
3. Takehiko Kanazawa, Takashi L. Shimada and Takashi Ueda, Biogenesis and Morphogenesis of Oil Body, December, 2017, The 65th NIBB Conference "Renaissance of Marchantia polymorpha the genome and beyond", Aichi, Japan (Oral)
4. Takashi Shimada, Plants inhibit sterol overproduction to achieve sterol homeostasis, November, 2017, 7th Asian Symposium on Plant Lipid-ASPL2017, Taipei, Taiwan (Oral)

(国内学会, ワークショップでの発表:12件)

5. 瀬上紹嗣, 木下悟, 島田貴士, 嶋田知生, 西村いくこ, 前島正義, GFPやTagRFPによるオイルボディ, 液胞の形態と植物生長への人為的影響, 第60回日本植物生理学会年会, 2019年3月13日~15日, 愛知, 口頭
6. 島田貴士, 嶋田知生, 岡咲洋三, 東泰弘, 斉藤和季, 桑田啓子, 小山香梨, 加藤美砂子, 高野義孝, 上田貴志, 中野明彦, 上田晴子, 西村いくこ, 小胞体タンパク質HIGH STEROL ESTER 1によるステロール恒常性維持機構, 第60回日本植物生理学会年会, 2019年3月, 愛知, 口頭
7. 島田貴士, 嶋田知生, 岡咲洋三, 東泰弘, 斉藤和季, 桑田啓子, 小山香梨, 加藤美

砂子, 高野義孝, 上田貴志, 中野明彦, 上田晴子, 西村いくこ, HiSE1 は HMG-CoA reductase を制御することで植物におけるステロール恒常性を維持する, 第 31 回植物脂質シンポジウム, 2018 年 11 月, 高知, 口頭

8. 島田貴士, 新奇オルガネラ・SE ボディに局在するタンパク質の解析, 第 7 回エンドメンブレンミーティング (JANPER2018), 2018 年 9 月, 京都, 口頭
9. 瀬上紹嗣, 木下悟, 島田貴士, 嶋田知生, 西村いくこ, 前島正義, GFP 等の融合タグによるオルガネラ形態と生長への人為的影響, 第 59 回日本植物生理学会年会, 2018 年 3 月, 札幌, ポスター
10. 金澤建彦, 島田貴士, 上田貴志, ゼニゴケの油体形成および形態形成に関わる因子の探索, 第 59 回日本植物生理学会年会, 2018 年 3 月, 札幌, 口頭
11. 中西将一, 島田貴士, 西村いくこ, 深尾陽一朗, 菅野茂夫, 糖処理によるシロイヌナズナ葉におけるオイルボディ形成の誘導, 第 59 回日本植物生理学会年会, 2018 年 3 月, 札幌, 口頭
12. 島田 貴士, 高野 義孝, 中野 明彦, 上田 貴志, 植物細胞のアクチン繊維崩壊を介した炭疽病菌感染機構, 第 59 回日本植物生理学会年会, 2018 年 3 月, 札幌, 口頭
13. 島田貴士, 2017 年 10 月, 脂質を貯めるだけではない? オイルボディが関わる新たな生命現象とは, 第 1 回千葉大学・若手植物科学の会, 千葉, 口頭 代表者として, シンポジウムを企画, 実行した.
14. 島田貴士, 嶋田知生, 岡咲洋三, 斉藤和季, 西村いくこ, 植物におけるステロール合成制御機構の解明, 第 30 回植物脂質シンポジウム, 2017 年 9 月, 東京, 口頭
15. 島田 貴士, 高野 義孝, 別役 重之, 中野 明彦, 上田 貴志, ホスファチジルイノシトールリン酸を介した炭疽病菌感染機構の解明, 第 58 回日本植物生理学会年会, 2017 年 3 月, 鹿児島, 口頭
16. 島田貴士, 嶋田知生, 岡咲洋三, 東浩司, 斉藤和季, 中野明彦, 上田貴志, 高野義孝, 西村いくこ, ステロール恒常性の制御を行う新規小胞体タンパク質, 第 29 回植物脂質シンポジウム, 2016 年 11 月, 大阪, 口頭
17. 島田貴士, 炭疽病菌感染時の細胞内動態の解析, 第 5 回エンドメンブレンミーティング (JANPER2016), 2016 年 9 月, 東京, 口頭

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

なし

取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/yuzurin/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2)研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。