

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05643

研究課題名(和文)植物の微生物応答と葉緑体のダイナミクスに関する研究

研究課題名(英文)Studies on plant response and chloroplast dynamics in response to microorganisms

研究代表者

入枝 泰樹(Irieda, Hiroki)

信州大学・学術研究院農学系・准教授

研究者番号：00749244

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：葉緑体は光合成器官として広く知られているが、植物免疫にも関与している。しかし、光合成の場は巨大な葉緑体が多数発達した内側の葉肉細胞であり、植物の表皮細胞に葉緑体は存在しないとされてきた。近年、シロイヌナズナの表皮細胞に小さな葉緑体(表皮葉緑体)が存在することが認識されていたが、その生理的な役割は不明であった。本研究では、多くの病原糸状菌の侵入を防いでいる植物の表皮細胞に存在する表皮葉緑体に焦点を当て、その動的特性の病原糸状菌に対する免疫への関与を証明することに成功した。表皮葉緑体には複数の免疫因子が特異的に局在し、病原糸状菌の攻撃に反応して細胞内を移動することで侵入の阻止に貢献していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、存在意義が不明であった植物の表皮葉緑体が病原糸状菌の侵入を阻止する防御応答に関与することが明らかとなり、学術的に重要な知見を得た。表皮葉緑体の細胞内移動を抑制した植物では病原糸状菌の表皮侵入に対する免疫が低下するが、この免疫低下は炭疽病菌やイネいもち病菌など複数の糸状菌に対して起こるため、広範な病原糸状菌に対する共通の免疫応答である可能性が考えられる。本成果を基盤に、病原糸状菌の攻撃を受けた際の表皮葉緑体の細胞内移動効率を上昇させるなど、その機能を増強する技術を開発できれば様々な病原糸状菌に抵抗性を示す免疫強化型植物の作出につながる可能性があり、社会的インパクトも期待される。

研究成果の概要(英文)：Chloroplast, a photosynthetic organelle, is also involved in plant immunity.

However, a large population of chloroplasts is highly differentiated in leaf mesophyll cells and it is believed that no chloroplasts exist in epidermal cells. Recently, chlorophyll-containing small chloroplasts in the epidermal pavement cells of *A. thaliana* have been recognized. However, the functional significance of these small chloroplasts remains unclear. Here, I focused on epidermal atypical chloroplasts and demonstrated that intracellular dynamic movements of epidermal chloroplasts are involved in antifungal plant immunity. Many immune components were specifically localized to epidermal chloroplasts and showed intracellular movements in response to entry trials of plant pathogenic fungi. These responses contribute to preventing the invasion of fungal pathogens.

研究分野：植物病理学

キーワード：植物 - 微生物間相互作用

1. 研究開始当初の背景

植物体を考えたとき、環境中の多種多様な病原微生物と最初に接する細胞は表皮細胞である。炭疽病菌などの植物病原系状菌はクチクラ層と細胞壁を貫通して植物の表皮細胞に侵入し、宿主植物の免疫系を抑制しながら内部へと菌糸を伸展する。しかし、特定の植物を考えた場合、感染能を有する病原系状菌(適応型菌)は極めて限られており、ほとんどの菌(不適応型菌)は植物の防御応答により感染を阻害される。つまり、植物の表皮細胞における防御応答は病原系状菌の感染を防ぐ上で極めて重要な役割を果たしていると考えられる。

光合成器官である葉緑体は植物免疫においても重要な役割を担うことが知られている。しかし、高等植物における光合成の場合は巨大な葉緑体が多数発達した内側の葉肉細胞であり、表皮細胞には気孔の孔辺細胞を除き、葉緑体は存在しないと広く信じられてきた。近年、数は少ないが表皮細胞にも小さな葉緑体が存在することが報告され、申請者はこの表皮葉緑体が植物免疫において重要な機能をもつのではないかと予想した。しかし、表皮葉緑体に関する知見は非常に乏しく、その存在意義は謎であった(図1)。そのような状況下で、申請者は、シロイヌナズナの表皮葉緑体が炭疽病菌に反応して細胞表層に出現する興味深い現象を独自に発見していた(表皮葉緑体応答、図2)。本応答は炭疽病菌の侵入行動(もしくはその付随行為)の認識により誘導され、不適応型菌の接種時に強く起こることが分かっている。しかし、植物免疫と関連付けるまでには至っていなかった。

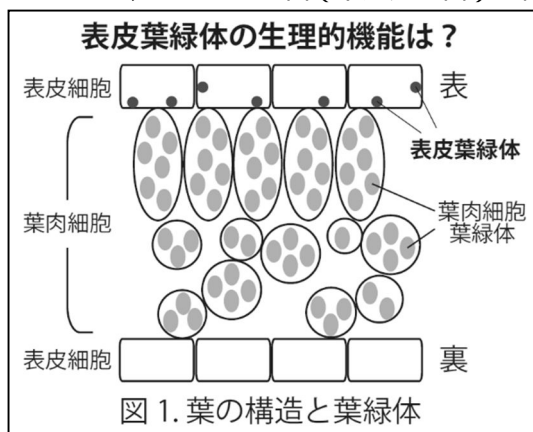


図1. 葉の構造と葉緑体

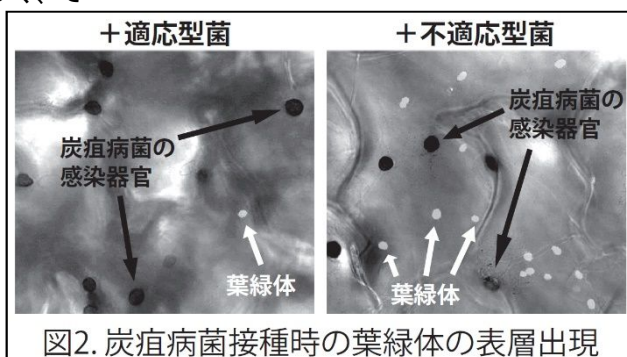


図2. 炭疽病菌接種時の葉緑体の表層出現

2. 研究の目的

本研究の目的は葉緑体のダイナミクスが寄与する新しい植物免疫システムの解明である。植物免疫に関するこれまでの葉緑体の知見は内部の代謝系に焦点を当てた研究を中心に得られている。葉緑体はその光合成能に加え、植物免疫における寄与も大きい。例えば、植物ホルモンのサリチル酸やセカンドメッセンジャーとして機能する活性酸素種、Ca²⁺など植物免疫を仲介する重要物質は葉緑体で生成される。また、同じく植物免疫に重要な植物ホルモンであるジャスモン酸やアブシジン酸の生合成も葉緑体を起点に始まる。さらに、病原微生物の感染情報が葉緑体経由で核に伝わり、免疫転写プログラムを活性化する免疫制御機構も報告されている。

光合成器官としての葉緑体が示す動的特性や葉緑体分裂装置の分子機構など、葉緑体のダイナミクスに関するこれまでの研究は、葉緑体のダイナミクスを「個」のオルガネラの特徴として追究する研究に集中している。葉緑体は、10億年以上も前に光合成細菌が真核細胞内に共生して誕生したオルガネラである。そのため、独自のゲノムをもつだけでなく、細菌と同様の分裂様式により複製、増殖する。また、ダメージを与える過度の光から逃避するため植物細胞内を移動する(光定位運動)。

以上のように、植物細胞内における葉緑体のダイナミクス(細胞内移動、分裂、分化など)と病原微生物に対する免疫応答の関連性に言及した研究はこれまでにない。あえて関連する研究例を挙げるならば、葉緑体の形態変化により伸びたチューブ状の構造(ストロミュール)が、ウイルスおよび細菌抵抗性に関与することを示した報告だけである。本研究は、葉緑体が関与する植物の病害抵抗性を包括的に理解するために、「葉緑体のダイナミクス」と「植物免疫」の関連付けに初めて挑戦する。炭疽病菌を含む系状菌病害が植物病害全体の7割以上を占める現状において、本研究がもたらす成果は将来的な病原系状菌の制御技術開発へとつながると期待される。

3. 研究の方法

本研究では、植物の葉緑体が炭疽病菌に反応して表皮細胞の表層側へ出現する現象の生理的意義を明らかにするために、図3の流れに沿って研究を遂行した(図3)。

(1) 葉緑体の細胞内移動、分裂、分化に関与する遺伝子に変異をもつシロイヌナズナを用いて、炭疽病菌接種後の表皮葉緑体応答を解析し、定量化する。接種にはシロイヌナズナを宿主とする適応型菌および本植物に感染できない不適応型菌を用いる。

(2) 各シロイヌナズナ変異体について病害抵抗性の評価を行う。とくに、炭疽病菌接種後の表皮葉緑体応答に異常が認められた植物に関しては、当該炭疽病菌だけでなく申請者が保有する様々な炭疽病菌に対する病原性試験を実施し、免疫系への影響を調査する。不適応型菌に対する非宿主抵抗性が崩壊し、壊死斑が形成されるか検証する。

(3) 炭疽病菌抵抗性に重要な表皮葉緑体ダイナミクス関連遺伝子を同定した後は、表皮葉緑体におけるその作用機構を分子レベルで詳細に解析する。

(4) 表皮葉緑体の応答は、炭疽病菌が植物の表皮細胞を貫通するときに用いる貫穿孔の形成もしくはその付随行為を認識して起こる。シグナル候補としては、侵入刺激そのものと貫穿孔からの病原菌分泌物が考えられるため、糸状菌の侵入に対する植物の防御応答の一種であるパピラ形成(カロースなどの蓄積)の評価および細胞外分泌系に欠損をもつ炭疽病菌変異株を用いた解析を行い、病原菌の認識機構を明らかにする。

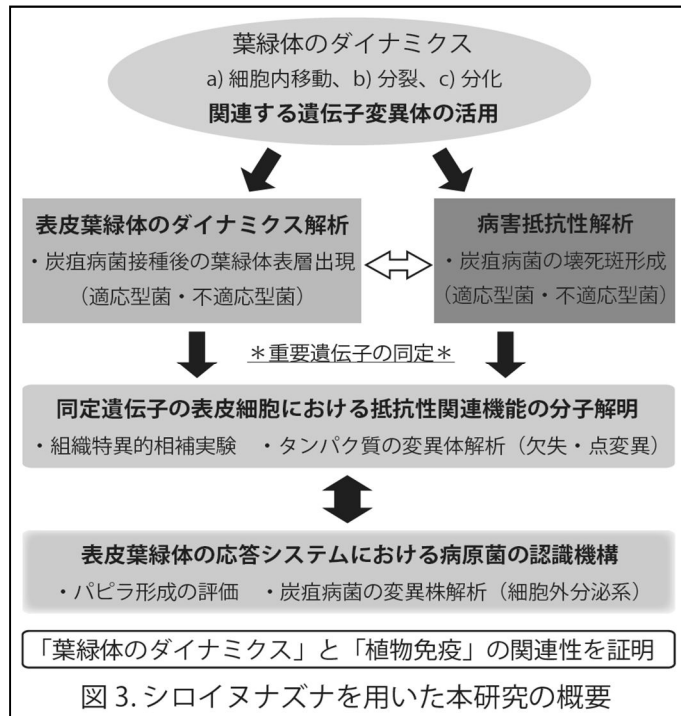


図 3. シロイヌナズナを用いた本研究の概要

4. 研究成果

(1) 表皮葉緑体応答を制御する因子として、葉緑体の光定位運動の制御因子である CHUP1 と JAC1 を同定した。とくに、CHUP1 遺伝子の変異体は炭疽病菌の有無に関わらず、表皮葉緑体が表層側で観察され、細胞内移動がやや制限される表現型を示す一方で、過剰発現体では表皮葉緑体応答が完全に抑制されたことから、表皮葉緑体の表層移動を負に制御していることが明らかとなった(図 4)。

(2) 表皮葉緑体応答が欠損する CHUP1 の変異体および過剰発現体における侵入阻止型の非宿主抵抗性を調査したところ、どちらの植物も不適応型炭疽病菌の被侵入率が上昇していた。このことから、表皮葉緑体応答は炭疽病菌に対する植物免疫に寄与することが示唆された(図 4)。

(3) 炭疽病菌接種後の表皮葉緑体の細胞内移動がどのように免疫に関与するのか調査するため、複数の植物免疫因子の細胞内局在を解析した。その結果、葉緑体局在型の GSH1、EDS5、CAS は表皮葉緑体に優先的に局在することが明らかとなった。また、表皮葉緑体応答にともない、これらの免疫因子も細胞内を移動した(図 4)。さらに、これら免疫因子の遺伝子に変異をもつ植物は、不適応型炭疽病菌に対する侵入阻止型の非宿主抵抗性が低下していた。

(4) 貫穿孔からの細胞外分泌系が低下した炭疽病菌変異株では表皮葉緑体応答の誘導能も低下していることが明らかとなった。このことより、植物は炭疽病菌の貫穿孔からの何らかの分泌物もしくは、それに依存する侵入レベルの差異を感知して表皮葉緑体応答を引き起こしていることが推定された。

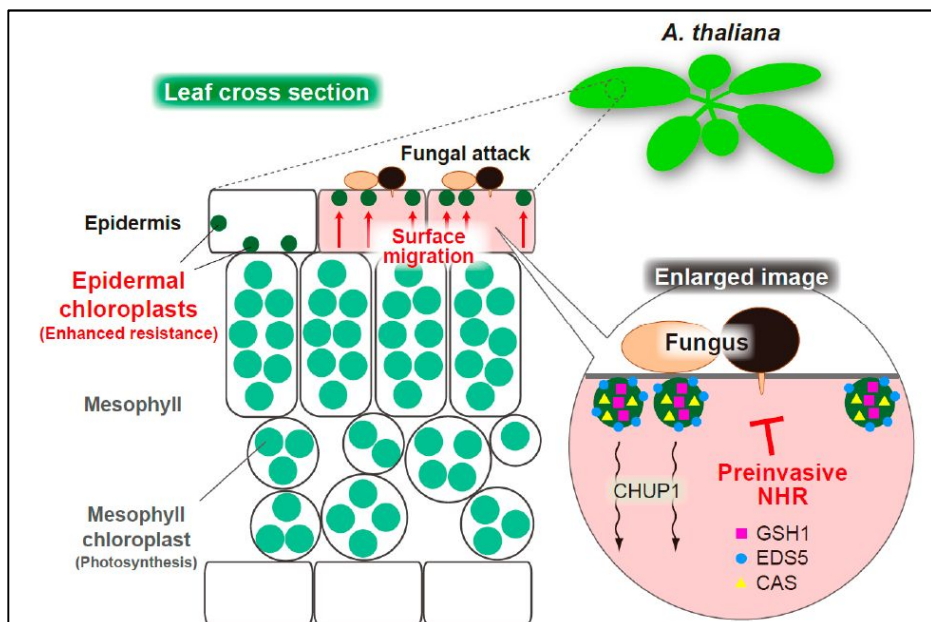


図 4 (Irieda, 2022 Int. J. Mol. Sci.より転載)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 入枝泰樹、高野義孝、塩見大輔	4. 巻 第53号
2. 論文標題 シロイヌナズナにおける葉緑体のダイナミクスと炭疽病菌応答への関与～植物と微生物の相互作用、侵略者から用心棒へ～	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本植物病理学会植物感染生理談話会論文集 (ISSN 1345-8086)	6. 最初と最後の頁 120-131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Irieda Hiroki, Takano Yoshitaka	4. 巻 12
2. 論文標題 Epidermal chloroplasts are defense-related motile organelles equipped with plant immune components	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-22977-5	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 Irieda Hiroki	4. 巻 -
2. 論文標題 Preinvasive nonhost resistance of <i>Arabidopsis</i> against melanized appressorium-mediated entry of multiple nonadapted <i>Colletotrichum</i> fungi	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Signaling & Behavior	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15592324.2021.2018218	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 入枝泰樹	4. 巻 79
2. 論文標題 病原糸状菌に対する新たな植物免疫機構～表皮葉緑体応答～	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 462-466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Irieda Hiroki	4. 巻 23
2. 論文標題 Emerging Roles of Motile Epidermal Chloroplasts in Plant Immunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4043 ~ 4043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23074043	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 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝
2. 発表標題 シロイヌナズナ表皮葉緑体の移動は病原糸状菌の付着器を介した侵入に対する抵抗性に関与する
3. 学会等名 令和2年度日本植物病理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝
2. 発表標題 病原糸状菌の付着器を介した侵入に対するシロイヌナズナの抵抗性と表皮葉緑体の役割
3. 学会等名 令和3年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝
2. 発表標題 シロイヌナズナ表皮葉緑体の移動は炭疽病菌の付着器侵入に対する抵抗性に関与する
3. 学会等名 第19回糸状菌分子生物学コンファレンス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝
2. 発表標題 シロイヌナズナ表皮葉緑体の移動は炭疽病菌に対する付着器侵入抵抗性に関与する
3. 学会等名 令和2年度日本植物病理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝、塩見大輔
2. 発表標題 ナスナにおける葉緑体のダイナミクスと炭疽病菌応答への関シロイヌナズナにおける葉緑体のダイナミクスと炭疽病菌応答への関与～植物と微生物の相互作用、侵略者から用心棒へ～
3. 学会等名 平成30年度植物感染生理談話会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝、塩見大輔
2. 発表標題 炭疽病菌に対するシロイヌナズナの付着器侵入抵抗性と表皮葉緑体の動的変化
3. 学会等名 第18回糸状菌分子生物学コンファレンス（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 入枝泰樹、高野義孝
2. 発表標題 不適応型炭疽病菌のシロイヌナズナに対する非親和性の差異に着目した重層的植物免疫の解析
3. 学会等名 第20回糸状菌分子生物学コンファレンス
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------