

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：32686

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14728

研究課題名（和文）植物の炭素/窒素制御による病原菌の感染様式に応じた抵抗性獲得機構の評価

研究課題名（英文）Evaluation of the mechanism of resistance acquisition by carbon/nitrogen control in plants according to the mode of infection of pathogens

研究代表者

前川 修吾（Maekawa, Shugo）

立教大学・理学部・助教

研究者番号：80711209

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）：本研究では植物の病原菌へのまだ知られていない抵抗方法の解明を目的として研究を実施した。寄生性病原菌に対する重要な抵抗手段である自発的細胞死が炭素/窒素バランス(C/N)が高いほど生じやすいことを示唆する結果を得た。また、腐敗性病原菌に対してはその逆にC/Nが低いほど抵抗性が高いことを示唆する結果を得た。また、リボソーム生合成因子に着目した解析から、C応答とリボソームストレス応答との強い関係を支持する結果を得た。本研究によって、植物のC/Nが病害応答における重要な要因であることを示唆するとともに、リボソームストレス応答がC応答に影響を与える要因であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究が着目したC/N制御による病害抵抗性の駆動という概念が確立されれば、植物-微生物間相互作用に関する研究を行う上で、植物のC/Nを常に適切にコントロールすることが、実験の再現性を得るうえで重要であることを知らしめることになる。また、本研究を発展させることによって、病原体感染時における抵抗性の駆動のためのC/N調整能力を高める手法が確立されれば、食糧生産性の向上などへの貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：This research was designed to elucidate an unknown method of plant resistance to pathogens. Our results suggest that spontaneous programmed cell death, an important resistance strategy against parasitic pathogens, is more likely to occur at higher carbon/nitrogen balance (C/N) levels. In contrast, the results suggest that a low C/N ratio is associated with higher resistance against necrotrophic pathogens. The analysis focusing on ribosome biosynthesis factors also supported a strong relationship between the C response and the ribosomal stress response. This research suggests that plant C/N is an important factor in disease response and that the ribosomal stress response is a factor that impacts the C response.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：植物免疫 栄養応答 C/N応答

1. 研究開始当初の背景

(1) 発芽した場所から動けない植物は外部環境の変化に対する柔軟な応答機構を獲得してきた。その中の一つである病原体への抵抗手段としては、植物細胞を生かしたまま栄養を奪う寄生性病原菌と、植物細胞を破壊して死細胞から栄養を奪う腐敗性病原菌の、それぞれに対して異なる防御方法をとっている。つまり、寄生性病原菌に対しては感染細胞の自発的な死が、腐敗性病原菌に対しては感染細胞の生存が抵抗性発揮のために重要となっている。他方、植物の栄養応答の重要な概念である細胞内の炭素窒素バランス(C/N)は細胞の **Viability** を規定する要素であり、老化した葉などでみられる高い C/N は低い **Viability** を、若い葉でみられる比較的低い C/N は高い **Viability** を意味すると考えられる。

(2) 研究代表者はこれまでに植物の病害応答および C/N 応答に関する研究を進めてきた。これまでに、植物の C/N 応答制御に関わる重要なユビキチンリガーゼ **ATL31** によく似たホモログである **ATL6** の機能解析及び **ATL31** と **ATL6** が病害抵抗性に関与していること [**Plant Mol. Biol.** 2012], **ATL31** が膜交通因子 **SYP121** の相互作用因子であり、うどんこ病菌への抵抗性に機能していること [**Plant Physiol.** 2014] 等を明らかにした。これらの知見が本研究のアイデアの基となった。それは、植物が寄生性病原菌に対しては細胞内の C/N を高めて **Viability** を下げることで抵抗し、腐敗性病原菌に対しては細胞内の C/N を低くして **Viability** を上げることで抵抗しているという、病原菌の感染様式に応じた C/N 制御による抵抗性獲得機構が存在するのではないか、というものである。

2. 研究の目的

本研究では「植物の C/N 制御による、病原菌の感染様式に応じた抵抗性獲得機構」という新たな概念を打ち出すことを目的とする。この研究を通して、植物 - 微生物相互作用の分野や農業への応用へ大きな影響が期待される。

3. 研究の方法

植物の C/N が制御する細胞内環境を理解することを基軸として、本研究では、下記 3 点の研究を遂行した。

- (1) **Fumonisin B1 (FB1)** による細胞死への C/N の影響の解析
- (2) 恒常的 **Hypersensitive Response (HR)** 様細胞死変異体を用いた細胞死への C/N の影響の解析
- (3) C 応答とリボソームストレスの関係の解析

4. 研究成果

(1) **Fumonisin B1 (FB1)** による細胞死への C/N の影響の解析

腐敗性病原菌由来の細胞死誘導毒素である **FB1** をシロイヌナズナの葉に処理すると細胞死が現れる。つまり、この **FB1** 処理を行うことで腐敗性病原菌の感染時の応答をミミックできる。この **FB1** を C 源である糖や N 源である硝酸と同時に葉に処理してその細胞死への影響を調べた。その結果、**FB1** による細胞死は、**150 mM** スクロースとの同時処理で顕著に増強された。さらに、そのスクロース液による細胞死の増強効果は、**60 mM** 硝酸との同時処理により緩和された。この結果は、植物側の細胞が高い C/N の状態であると腐敗性病原菌への抵抗力が弱まることを示唆する、仮説を一部支持するものであった。

(2) 恒常的 **Hypersensitive Response (HR)** 様細胞死変異体を用いた細胞死への C/N の影響の解析

恒常的 **HR** 様細胞死変異体は、成長するにつれて主に葉に自発的細胞死が現れる変異体である。この変異体を用いて C/N を調整した培地上で生育させて、自発的細胞死が葉に現れてくる早さを検証した。その結果、高い C/N 条件において最も早く自発的細胞死が現れ、そこから C 源を減らす、あるいは N 源を増やすことでそのタイミングが遅れ、C/N が低い条件で最も遅く自発的細胞死が現れるようになった。

(3) C 応答とリボソームストレス応答の関係の解析

リボソームストレス応答とは、タンパク質合成装置であるリボソームの生合成に何らかの異常が生じたときに、タンパク質合成を正常化するために細胞の成長や増殖を抑制することである。植物のリボソーム生合成に関与する因子 (**RBF**) やリボソームタンパク質の変異体の多くでは葉の発生異常や主根身長長の抑制、発芽のタイミングの遅延などがみられる¹⁻³。これらが恒常

的なリボソームストレス応答の結果であるかどうかの議論が続いている。この **RBF** の変異体群ではほかにも糖に過剰応答することが複数報告されている。そこで、**RBF** の一つである **OLI2** についてもその変異体及び過剰発現体について **C** 応答の検証を行った。その結果 **oli2** 変異体と **OLI2** 過剰発現体では、野生型よりもそれぞれ過剰応答及び耐性を示した。これは、リボソームストレス応答と **C** 応答との強い関連を支持するものである。その他、オーキシンへの応答性や新奇の相互作用因子 **BRX1-2** の同定、**OLI2** 過剰発現体のフェノタイピングの結果をまとめて報告した (Maekawa and Yanagisawa 2021)。

<引用文献>

1. Shugo Maekawa, Tetsuya Ishida, Shuichi Yanagisawa. (2018) Reduced expression of APUM24, encoding a novel rRNA processing factor, induces sugar-dependent nucleolar stress and altered sugar responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 30: 209-227.
2. Hsu YF, Chen YC, Hsiao YC, Wang BJ, Lin SY, Cheng WH, Jauh GY, Harada JJ, Wang CS (2014) AtRH57, a DEAD-box RNA helicase, is involved in feedback inhibition of glucose-mediated abscisic acid accumulation during seedling development and additively affects pre-ribosomal RNA processing with high glucose. *Plant J* 77: 119–135.
3. Li PC, Li K, Wang J, Zhao CZ, Zhao SZ, Hou L, Xia H, Ma CL, Wang XJ (2019) The AAA-ATPase MIDASIN 1 functions in ribosome biogenesis and is essential for embryo and root development. *Plant Physiol.* 180: 289–304.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 Shugo Maekawa, Shuichi Yanagisawa	4. 巻 38
2. 論文標題 Ribosome biogenesis factor OLI2 and its interactor BRX1-2 are associated with morphogenesis and lifespan extension in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Biotech.	6. 最初と最後の頁 117-125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.20.1224a	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 Yumi Nagashima, Katsutomo Ohshiro, Akiyasu Iwase, Miyuki T. Nakata, Shugo Maekawa, Gorou Horiguchi	4. 巻 9
2. 論文標題 The bRPS6-Family Protein RFC3 Prevents Interference by the Splicing Factor CFM3b during Plastid rRNA Biogenesis in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 328
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/plants9030328	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 Shugo Maekawa, Yoshiaki Ueda, Shuichi Yanagisawa.	4. 巻 9
2. 論文標題 Overexpression of a Brix Domain-Containing Ribosome Biogenesis Factor ARPF2 and its Interactor ARRS1 Causes Morphological Changes and Lifespan Extension in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front. Plant Sci.	6. 最初と最後の頁 1177
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2018.01177	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8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 前川修吾、五十嵐幹太、深田かなえ、高原正裕、塚谷裕一、堀口吾朗
2. 発表標題 Destabilization of RPL12B by ubiquitin ligase SZK2-mediated ubiquitination is required for ribosome stress response
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前川修吾、五十嵐幹太、深田かなえ、高原正裕、塚谷裕一、堀口吾朗
2. 発表標題 リボソームストレスシグナル伝達の鍵因子RING型ユビキチンリガーゼSZK2とリボソームタンパク質RPL12Bの関係
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀口吾朗、長嶋友美、前川修吾、中田未友希、塚谷裕一
2. 発表標題 シロイヌナズナrfc3変異における側根形成異常にはリボソームストレス応答因子SZK1が関与する
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前川修吾、植田佳明、柳澤修一
2. 発表標題 リボソーム生合成因子ARPF2とその相互作用因子ARRS1が植物の形態形成に果たす役割の解析
3. 学会等名 第37回日本植物細胞分子生物学会（京都）大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前川修吾、五十嵐幹太、深田かなえ、高原正裕、塚谷裕一、堀口吾朗
2. 発表標題 植物リボソームストレスのシグナル伝達因子SZK2とRPL12Bの相互作用の意義
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前川修吾、五十嵐幹太、深田かなえ、高原正裕、西村奎亮、塚谷裕一、堀口吾朗
2. 発表標題 リボソームストレスシグナル伝達の鍵因子RING型ユビキチンリガーゼSZK2とリボソームタンパク質RPL12Bの役割
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前川修吾、深田かなえ、高原正裕、塚谷裕一、堀口吾朗
2. 発表標題 as2 rpl4d二重変異体における葉の背軸化を抑圧するrpl12b及びszk2変異に関する解析
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前川修吾、深田かなえ、高原正裕、塚谷裕一、堀口吾朗
2. 発表標題 リボソームストレスシグナリングにおけるリボソームタンパク質RPL12B及びRING型ユビキチンリガーゼSZK2の機能解析
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

立教大学 理学部 生命理学科 分子植物発生学研究室
<https://sites.google.com/rikkyo.ac.jp/rikkyo-horiguchi-lab/home>

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