

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05949

研究課題名(和文) ユビキチンシグナルによる膜交通制御を介した植物の病原体抵抗性強化機構

研究課題名(英文) Plant immunity regulation via ubiquitin signals on membrane trafficking

研究代表者

佐藤 長緒 (Sato, Takeo)

北海道大学・理学研究院・准教授

研究者番号：50609724

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、植物の病原体ストレス抵抗性に着目し、その優れた環境適応能力を支える細胞内膜交通系の分子実態と制御機構について明らかにすることを目的とした。特に、膜局在型ユビキチンリガーゼによる膜交通因子の機能制御に注目した。その結果、TGN/EE局在型SNARE因子と膜局在型ユビキチンリガーゼATL31が相互作用していること、この相互作用がATL31の細胞内局在性や生理機能に重要な役割を果たすことを見出した。さらに、TGN/EE局在型SNAREタンパク質のK63鎖型ユビキチン化を発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物免疫機構の理解は、農作物の収量向上を実現する上で重要な課題である。本研究から、これまであまり知られていなかった膜交通系の機能制御機構やユビキチンシグナルの機能性が見出された。本研究成果は、植物免疫を制御する分子基盤の理解に貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the molecular mechanism regulating plant resistance to pathogen attack via the ubiquitin signals on membrane trafficking. We focused on the biochemical and physiological functions of membrane localized ubiquitin ligase ATL31. As results, we found ATL31 physically interacts with a TGN/EE-SNARE protein. This interaction is required for the proper subcellular localization and physiological function of ATL31. In addition, we found the TGN/EE-SNARE protein was decorated by K63-type ubiquitin chain in plants.

研究分野：植物科学

キーワード：環境応答 ユビキチンリガーゼ

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究では、植物の病原体ストレス抵抗性に着目し、植物の優れた環境適応能力を支える細胞内膜交通系の制御機構について明らかにすることを目的とした。特に、膜局在型ユビキチンリガーゼとその相互作用因子の機能について注目した。ユビキチン修飾は、タンパク質分解や細胞内局在性を制御する分子スイッチとして重要な機能を担う。植物に特有の膜局在型ユビキチンリガーゼ ATL 族タンパク質は、標的となる膜タンパク質をユビキチン化することで、細胞膜を介した多様な環境シグナルの受容・伝達制御に深く関わる。申請者らは、ユビキチンリガーゼ ATL31 の機能性に関する研究を進めており、このタンパク質が基幹代謝 C/N 栄養応答制御に関わることを発見した。加えて、ATL31 は病害抵抗性にも関与し、病原体（真正細菌およびカビ）に応答したカロース分泌を促進し、病原体抵抗性を強化させることを明らかにした。加えて、TGN/EE に膜交通制御因子 SYP61 との相互作用を見出した。

2. 研究の目的

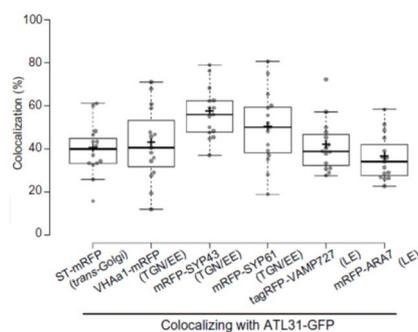
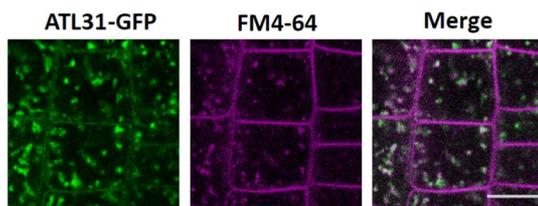
こうした研究背景から、ユビキチンシグナルによる膜交通系の制御が植物の病原体抵抗性において果たす役割について研究した。具体的には、ATL31 と SYP61 の相互作用に着目し、これに関する生化学的および生理学的解析を行った。

3. 研究の方法

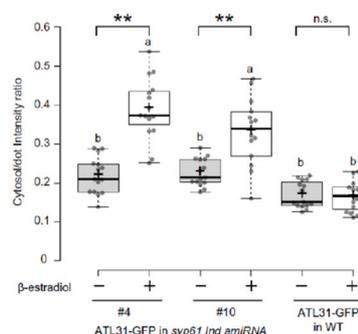
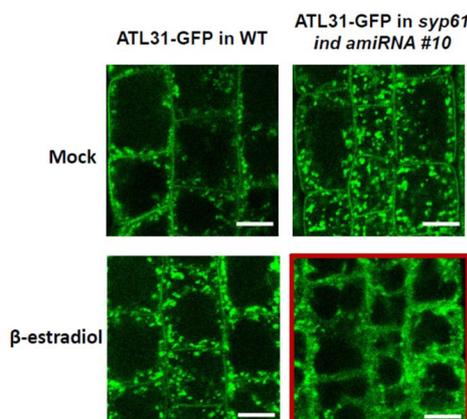
本研究では、モデル植物シロイヌナズナを材料に、ATL31 や SYP61 の細胞内局在性に関するイメージング解析、複合体機能に関する生化学的解析、in vivo および in vitro でのユビキチン化解析、各種変異株を用いた生理機能解析を行った。

4. 研究成果

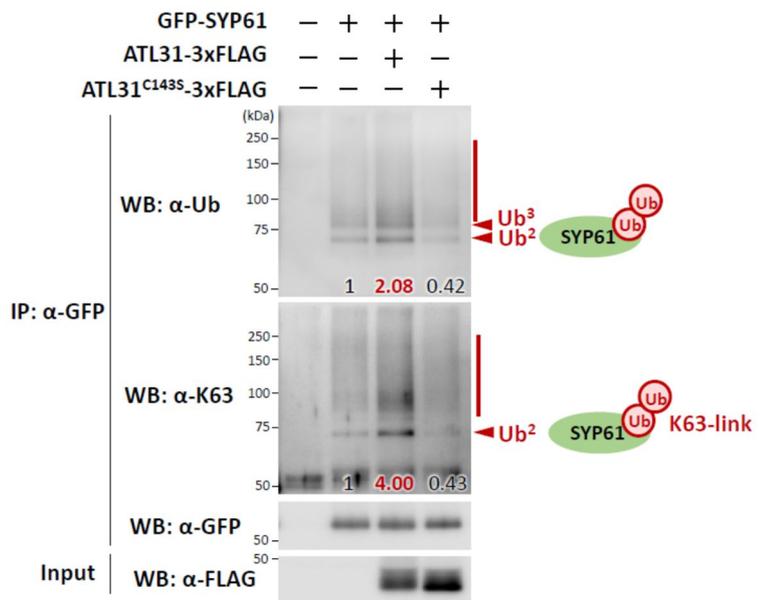
(1) 膜局在型ユビキチンリガーゼ ATL31 の細胞内局在性について詳細な解析を行った。膜交通系の阻害剤処理や各種オルガネラマーカータンパク質との共局在解析を実施した。その結果、ATL31 が細胞膜に加えて TGN/EE を含む複数の内膜系オルガネラに局在すること、最終的に液胞に運搬され分解を受けることが分かった。



(2) ATL31 と TGN/EE 局在 SNARE タンパク質 SYP61 の関係について詳しい解析を行った。その結果、*syp61* の機能抑制変異株は C/N ストレスにこう感受性になること、そして、*syp61* 機能抑制変異株においては、ATL31 の細胞内局在性に異常が見られることが分かった。ATL31 が存在する細胞内顆粒構造が減少し、細胞質に拡散したような蛍光画像が観察された。そして、*syp61* の機能抑制変異株背景で ATL31 を過剰発現させても、野生型背景で見られるようなドミナントの表現型が見られないことが分かった。



(3) SYP61 のユビキチン化についてより詳しい解析を行った。In vitro 反応後、Aqua peptide を用いた定量的 MS 解析の結果、ATL31 は、SYP61 に対して K63 鎖を含むユビキチン鎖を形成することが分かり、in vivo でも K63 鎖型ユビキチン化を検出した。加えて、MS 解析により SYP61 のユビキチン化サイトを同定し、C 末領域に多く検出されることが分かった。これらのユビキチン化リジン変異導入 SYP61 発現株を作成し、その生理機能解析を行う。また、SYP61 に作用する脱ユビキチン化候補の探索も行い、その候補タンパク質を得ている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Luo Yongming, Yasuda Shigetaka, Takagi Junpei, Hasegawa Yoko, Chiba Yukako, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 636
2. 論文標題 Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 regulate carbon/nitrogen-nutrient stress responses by interacting with the membrane-localized ubiquitin ligase ATL31 in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 55 ~ 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.10.089	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 Maki Yuko, Soejima Hiroshi, Sugiyama Tamizi, Watahiki Masaaki K., Sato Takeo, Yamaguchi Junji	4. 巻 39
2. 論文標題 3-Phenyllactic acid is converted to phenylacetic acid and induces auxin-responsive root growth in Arabidopsis plants	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 111 ~ 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.21.1216a	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 Maki Yuko, Soejima Hiroshi, Sugiyama Tamizi, Sato Takeo, Yamaguchi Junji, Watahiki Masaaki K.	4. 巻 39
2. 論文標題 Conjugates of 3-phenyllactic acid and tryptophan enhance root-promoting activity without adverse effects in <i>Vigna angularis</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 173 ~ 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.21.1217a	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 Luo Yongming, Takagi Junpei, Claus Lucas Alves Neubus, Zhang Chao, Yasuda Shigetaka, Hasegawa Yoko, Yamaguchi Junji, Shan Libo, Russinova Eugenia, Sato Takeo	4. 巻 23
2. 論文標題 Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 stabilize the brassinosteroid receptor BRI1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e53354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.202153354	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 Hasegawa Yoko, Huarancca Reyes Thais, Uemura Tomohiro, Baral Anirban, Fujimaki Akari, Luo Yongming, Morita Yoshie, Saeki Yasushi, Maekawa Shugo, Yasuda Shigetaka, Mukuta Koki, Fukao Yoichiro, Tanaka Keiji, Nakano Akihiko, Takagi Junpei, Bhalerao Rishikesh P, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 34
2. 論文標題 The TGN/EE SNARE protein SYP61 and the ubiquitin ligase ATL31 cooperatively regulate plant responses to carbon/nitrogen conditions in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 1354 ~ 1374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plcell/koac014	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 Sanagi Miho, Aoyama Shoki, Kubo Akio, Lu Yu, Sato Yasutake, Ito Shogo, Abe Mitsutomo, Mitsuda Nobutaka, Ohme-Takagi Masaru, Kiba Takatoshi, Nakagami Hirofumi, Rolland Filip, Yamaguchi Junji, Imaizumi Takato, Sato Takeo	4. 巻 118
2. 論文標題 Low nitrogen conditions accelerate flowering by modulating the phosphorylation state of FLOWERING BHLH 4 in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2022942118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2022942118	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 Li Xingwen, Sanagi Miho, Lu Yu, Nomura Yuko, Stolze Sara Christina, Yasuda Shigetaka, Saijo Yusuke, Schulze Waltraud X., Feil Regina, Stitt Mark, Lunn John E., Nakagami Hirofumi, Sato Takeo, Yamaguchi Junji	4. 巻 11: 377
2. 論文標題 Protein Phosphorylation Dynamics Under Carbon/Nitrogen-Nutrient Stress and Identification of a Cell Death-Related Receptor-Like Kinase in Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.00377	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 該当する

1. 著者名 Luo Yongming, Lu Yu, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 無し
2. 論文標題 Proteome Analysis of 14-3-3 Targets in Tomato Fruit Tissues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology "Plant Proteomics: Methods and Protocol, Third Edition"	6. 最初と最後の頁 289 ~ 296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-0528-8_21	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤長緒
2. 発表標題 栄養シグナルによる植物の成長相転換制御機構
3. 学会等名 植物の栄養研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 2. 長谷川陽子, Thais Huarancca Reyes, 植村知博, Anirban Baral, 羅永茗, 前川修吾, 安田盛貴, 深尾陽一朗, 中野明彦, 高木純平, Rishikesh P. Bhalerao, 山口淳二, 佐藤 長緒
2. 発表標題 SNAREタンパク質SYP61はユビキチンリガーゼATL31と共にシロイヌナズナのC/N栄養応答を制御する
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Luo Y, Takagi J, Claus LAN, Zhang C, Yasuda S, Hasegawa Y, Yamaguchi J, Shan L, Russinova E and Sato T
2. 発表標題 Deubiquitinating enzymes limit the degradation of brassinosteroid receptor BRI1 in Arabidopsis
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Luo Y, Yasuda S, Lu T, Hasegawa Y, Takagi J, Yamaguchi J, Sato T
2. 発表標題 A deubiquitinating enzyme associates the membrane localized ubiquitin ligase ATL31 to modulate plant responses to C/N-nutrient availability in Arabidopsis
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 長谷川 陽子, 羅永茗, 椋田航生, 新井麻由, 植村 知博, Yohann Boutte, 中野 明彦, 山口 淳二
2. 発表標題 ユビキチンシグナルと膜交通制御を介した植物のC/N栄養応答の解析
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP http://www.sci.hokudai.ac.jp/CSF2-web/
--

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			
ベルギー	ゲント大学			
スウェーデン	スウェーデン農業大学			