

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H00885

研究課題名(和文)植物-微生物間相互作用の天然物ケミカルバイオロジー

研究課題名(英文)Chemical biology of natural products involved in plant-microbe interaction

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) 33,500,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、コロナチンの可能な全ての立体異性体を供給可能な柔軟な合成ルートを構築し、コロナチンの全16種立体異性体からなる化合物ライブラリーを構築した。次に、CO11-JAZ共受容体サブタイプ親和性試験によって、この立体異性体ライブラリーに含まれる異性体の各受容体サブタイプに対する親和性を網羅的に評価した。その結果、16種の立体異性体の1つが、CO11-JAZ9に高い選択性を有するアゴニストであった。この立体異性体は防御応答反応を選択的に活性化し、その他の応答は誘導しないことが分かった。このため、CO11-JAZ9の下流で機能する防御応答関係の遺伝子を網羅的に同定することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の防御応答に関係する植物ホルモン ジヤスモン酸イソロイシンは、遺伝的冗長性を持つCO11-JAZ共受容体に結合する。このような遺伝的冗長性を持つ系において、各サブタイプの機能を解明することは遺伝学的手法では難しい。我々の成果は、ケミカルバイオロジーがこれを解決する優れた手法であることを示した点で学術的に大きな意義がある。また、社会給的には、植物の生長を阻害することなく植物免疫を活性化する分子の開発が可能であることを示せた点は、今後の農薬開発に重要な指針を与える成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We constructed a flexible synthetic route to supply all possible stereoisomers of coronatine and constructed a compound library consisting of all 16 stereoisomers of coronatine. Next, the affinities of the isomers in this stereoisomer library for each receptor subtype were comprehensively evaluated by CO11-JAZ co-receptor subtype affinity test. As a result, one of the 16 stereoisomers was an agonist with high selectivity for CO11-JAZ9. This stereoisomer was found to selectively activate the defense response and not induce other responses. Therefore, it is possible that CO11-JAZ9, and thus, we were able to comprehensively identify defense-response-related genes that function downstream of CO11-JAZ9.

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 ジヤスモン酸 受容体 遺伝的冗長性

1. 研究開始当初の背景

食糧増産は、現代の人類に課せられた重要課題である。国際食糧農業機関(FAO)によると、2050年までに世界人口は92億に達し、食糧供給と需要のギャップは拡大すると予測されている。世界人口の増加を考慮すると、今後40年間に70%の食糧増産を達成する必要がある(<http://www.plantcell.org/site/teachingtools/TTPB1.xhtml>)。一方、世界における農作物予定収穫量の15%は病害、16%は虫害によって失われている(E-C. Oerke, “Crop Production and Crop Protection”, Elsevier, **1994**, 808 p)。従って、損失の抑制に直結する植物-微生物間相互作用の理解と制御は、社会的に重要な研究テーマである(*Nat. Rev. Genetics*, **2010**, *11*, 539)。植物-微生物間相互作用は複雑な生物現象である。各ステップで植物ホルモンや植物毒素などの天然有機化合物がキープレイヤーとして働き、有機化学者の貢献も大きい(植物病害の化学、学術出版センター、1997年; *Nat. Chem. Biol.*, **2009**, *5*, 308)。近年、植物ホルモンのジャスモン酸イソロイシン(JA-Ile)が病害や虫害に対する植物免疫のメインプレイヤー(植物免疫ホルモン)とされ、その作用について膨大な研究が行われている(*Ann. Bot.*, **2013**, *111*, 1021; *J. Chem. Ecol.*, **2014**, *40*, 657)。

2. 研究の目的

植物への病原菌感染は食糧供給を脅かす脅威であり、世界の食糧生産量の15%が病原菌感染によって失われている。本研究では、社会的に重大な意義をもつ植物-微生物間相互作用の分子機構解明と、それに基づく画期的な植物機能調節剤の開発を目指す。天然有機化合物をツールとして、植物の病原菌感染時に起こるイベントを対象とした天然物ケミカルバイオロジー研究を展開する。

植物の免疫ホルモン**1**は、免疫増強と同時に「副作用」として植物の生長を抑制する。このジレンマが**1**の農業応用を大きく制限している。**1**が異なる応答を同時に活性化する理由は、そのユニークな受容体にある。**1**は、2種のタンパク質(COIIとJAZ)間の相互作用(PPI)を誘導する「糊」として働き、COII-JAZ共受容体と結合する(図2)。この際、COIIと12種のJAZサブタイプ全てとの間にPPIを誘導する(*Nature*, **2007**, *448*, 666; **2007**, *448*, 661; **2010**, *468*, 400)。各JAZサブタイプは各々異なる応答を制御するため、免疫増強と生長抑制が同時に活性化される(*Plant Cell*, **2011**, *23*, 3089; *Trends Plant Sci.*, **2012**, *17*, 22)。そこで、**1**の活性をチューニングし、COIIとJAZとのPPIをJAZサブタイプ特異的に誘導するサブタイプ特異的PPIアゴニストを開発し、植物免疫を選択的に活性化する。

3. 研究の方法

植物免疫ホルモン活性のチューニング：我々は、COI1-JAZ 共受容体リガンドの立体異性体のひとつが、12 種のうち数種の JAZ サブタイプ選択的に COI1 との PPI を誘導することを示した (*Nature Commun*, 2018)。これは世界初のサブタイプ選択的 PPI アゴニストである。本研究では、これをさらに発展させ、COI1-JAZ 共受容体リガンドの網羅的な立体異性体ライブラリを構築し、JAZ サブタイプ選択性を精査する。リガンド結合 COI1-JAZ1 共受容体の結晶構造 (*Nature*, 2010, 468, 400) を基に、*in silico* ドッキングスタディによってリガンド立体異性体の構造を最適化し、単一の JAZ サブタイプ特異的に COI1 との PPI を誘導するサブタイプ特異的アゴニストを開発する(。その後これを植物体へ投与し、植物免疫活性化と生長抑制への影響を、表現型観察並びに DNA マイクロアレイによるマーカー遺伝子解析などに基づいて評価する (*Nat. Chem Biol.*, 2014, 10, 671; 2014, 10, 830)。

4. 研究成果

我々は、コロナチンの立体異性体ライブラリを構築するために、その構成ユニットの合成的供給法の確立並びに、可能な全ての立体異性体を供給可能な柔軟な合成ルートの構築を行った。Watson らの合成ルートに実用的な改良を加えた合成ルートの開拓によって、構成ユニットの一つであるコロナファシン酸をグラムスケールで供給することが可能となった。さらに、このルートを用いて、可能な 4 つの立体異性体全てを合成的に供給できた。もうひとつの構成ユニットであるコロナミン酸の全立体異性体 4 つの合成的供給は、既知の合成ルートに従うことで達成できた。これらを各々縮合することで、コロナチンの全 16 種立体異性体からなる化合物ライブラリを構築できた。次に、蛍光異方性アッセイを用いた COI1-JAZ 共受容体サブタイプ親和性試験によって、この立体異性体ライブラリに含まれる異性体の各受容体サブタイプに対する親和性を網羅的に評価した。その結果、16 種の立体異性体の 1 つが、COI1-JAZ9 に高い選択性を有するアゴニストであることが明らかになった。同様に、トマトの 13 種の COI1-JAZ 共受容体、およびイネの 45 種の COI-JAZ 共受容体への親和性を網羅的に評価した。その結果、いずれの系においても、高いサブタイプ選択性を示す立体異性体が見出された。この結果は、立体異性体を用いることで、COI1-JAZ 共受容体のサブタイプ選択的リガンドを開発できることを示している。

次に、シロイヌナズナの系において、COI1-JAZ9 の下流で起こる生物応答と遺伝子発現を調べたところ、この立体異性体は防御応答反応を選択的に活性化し、その他の応答は誘導しないことが分かった。このため、RNAseq によるトランスクリプトーム解析を行い、COI1-JAZ9 の下流で機能する防御応答関係の遺伝子を網羅的に同定することができた。これは、過去の遺伝学的解析では実現できなかった画期的成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
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 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 <i>Arabidopsis thaliana</i>	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 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	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 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/DOCB00204F	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 Y. 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 CO11-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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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 (Yousuke Takaoka) (80599762)	東北大学・理学研究科・講師 (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
---------	---------