

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2007～2011

課題番号：19108005

研究課題名 (和文) Rac GTPase を介した植物免疫の分子機構の解明

研究課題名 (英文) Molecular basis of Rac GTPase in plant innate immunity

研究代表者

島本 功 (SHIMAMOTO KO)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：10263427

研究代表者の専門分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：植物免疫

1. 研究計画の概要

本研究課題では、植物自然免疫機構の中核であると言える、病原体認識機構および信号伝達の分子機構をタンパク質間相互作用から得られた耐病性関連タンパク質の分子ネットワークの解析を通じて明らかにする。

2. 研究の進捗状況

(1) R タンパク質の機能に関する新規な発見

抵抗性 (R) タンパク質は、病原体の侵入を感知する細胞内レセプターとして働き、植物の自然免疫において極めて重要な分子である。しかしながら、R タンパク質がどのようなシグナル分子を介して植物の免疫を誘導するかは不明であった。我々は、イネのいもち病菌の R タンパク質 Pit が G タンパク質 OsRac 1 に直接結合し、OsRac 1 を活性化することを見出した。また、Pit は、OsRac 1 を活性化することにより、活性酸素や過敏感細胞死を制御して、いもち病に対する抵抗性を制御することを明らかにした (Kawano et al., Cell Host Microbe, 2010)。本研究成果は、世界に先駆けて R タンパク質による耐病性誘導の分子メカニズムを明らかにしたものである。

(2) 細胞膜貫通型免疫レセプターの成熟と細胞内輸送に関する新規な発見

細胞膜貫通型免疫レセプターは、細胞膜上に局在するが、それらの輸送機構や成熟機構はほとんど明らかになっていない。我々は、

Defensome の構成タンパク質である Hop/Stil と Hsp90 がキチンレセプターに直接結合することを見出した (Chen et al., Cell Host Microbe, 2010)。また、Hop/Stil の RNAi によりキチンレセプターの局在異常が観察され、いもち病菌に対する抵抗性が抑制されることを明らかにした。したがって、Hop/Stil がキチンレセプターに直接結合し、ER から細胞膜への輸送あるいは、ER での成熟に関与することが示唆された。Hop/Stil が現在不明である植物の病原体レセプターの輸送機構や成熟機構の解明の分子基盤となる可能性が高い。

(3) イネの免疫反応を制御する Defensome モデルの構築

プロテオーム解析により、OsRac1 複合体 Defensome を構成する因子として、RAR1, Hsp90, RACK1, Hop/Stil を同定し、それらのタンパク質が耐病性において重要な役割を果たすことを明らかにした (Thao et al., Plant Cell, 2007; Nakashima et al., Plant Cell, 2008; Fujiwara et al., Plant Cell Physiol., 2009; Chen et al., Cell Host Microbe, 2010)。さらに、バイオイメージングを駆使した結果、OsRac1 が細胞膜貫通型レセプター (CERK1) や R タンパク質 (Pit) などの病原体レセプターと結合することを見出した。

生化学的な解析の結果、OsRac1 は自身の活性化に依存して高分子の複合体を形成することが明らかになった。この結果から、直接的に OsRac1 がタンパク質複合体を形成すること

が証明できた。本研究のスタート時点では、不明瞭であったOsRac1を含むタンパク質複合体Defensomeの分子実体を明らかにしつつある。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

本研究課題では、申請時に5つの視点から解析を行うことを目標とした。いずれの解析も順調に研究が進展しており当初の目的を達成している(前述)。これらの解析を通して、OsRac1を中心とするタンパク質複合体Defensomeが植物自然免疫応答の中樞を担っていること証明できたと確信している。

予定以上の成果として、Defensomeの構成タンパク質であるHop/Stilが病原体を認識するレセプターであるキチンレセプターに直接結合し、キチンレセプターの小胞体から細胞膜への輸送あるいは、小胞体での成熟に関与することを明らかにした(Chen et al., *Cell Host Microbe*, 2010)。また、耐病性反応の誘導の際にセカンドメッセンジャーとして働く活性酸素を生成するNADPHオキシダーゼ(Rboh)をDefensomeの構成因子として発見した(Wong et al., *Plant Cell*, 2007)。OsRac1によるNADPHオキシダーゼへの直接結合が活性酸素の産生に重要であることを見出した。さらに、新規の耐病性誘導物質としてセロトニンを同定した(Fujiwara et al., *J Biol Chem.* 2010)。非常に興味深いことに、セロトニンを介した耐病性誘導もDefensomeを介していることを明らかにした。セロトニンは、モノアミンの低分子化合物であり、農薬などへの応用が可能となる。このように、現段階で当初の目標を超える研究の進展があり、予定以上の成果が見込まれる。

4. 今後の研究の推進方策

本研究課題では、申請時に5つの視点から解析を行うことを目標とした。いずれの解析も順調に研究が進展しており当初の目的を達成している。今後も、遺伝学、分子生物学、細胞生物学、生化学などの様々な手法を駆使して、OsRac1を中心とするタンパク質複合体Defensomeの植物自然免疫応答における役割の解析を行う。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計13件)

① Kawano, Y., Akamatsu, A., Hayashi, K., Housen, Y., Okuda, J., Nakashima, A., Takahashi, H., Yoshida, H., Hann Ling Wong, Kawasaki, T., and Shimamoto, K., Activation of a Rac GTPase by the NLR Family Disease Resistance Protein Pit Plays a Critical Role in Rice Innate Immunity, **Cell Host Microbe**, in Press 査読有

② Chen, L., Hamada, S., Fujiwara, M., Zhu, T., Thao, N.P., Wong, H.L., Krishna, P., Ueda, T., Kaku, H., Shibuya, N., Kawasaki, T. and Shimamoto, K. Hop/Stil and HSP90 are involved in maturation and transport of a PAMP receptor in rice innate immunity. **Cell Host Microbe**, 7: 185-96. (2010) 査読有

③ Nakashima, A., Chen, L., Thao, N.P., Fujiwara, M., Wong, H.L., Kuwano, M., Umemura, K., Shirasu, K., Kawasaki, T., and Shimamoto, K. RACK1 functions in rice innate immunity by interacting with the Rac1 immune complex. **Plant Cell**, 20: 2265-2279. (2008) 査読有

④ Thao, N.P., Chen, L., Nakashima, A., Hara, S., Umemura, K., Takahashi, A., Shirasu, K., Kawasaki, T., and Shimamoto, K. RAR1 and HSP90 form a complex with Rac/Rop GTPase and function in innate immune responses in rice. **Plant Cell**, 19: 4035-4045. (2007) 査読有

[学会発表] (計30件)

① Shimamoto, K. OsRac1 GTPase is a key regulator of PTI and ETI in rice. XIV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions 2009, カナダ

[図書] (計6件)

① Kawasaki, T., Imai, K., Wong, H.L., Kawano, Y., Nishide, K., Okuda, J., and Shimamoto, K. Rice guanine nucleotide exchange factors for small GTPase OsRac1 involved in innate immunity of rice. **In Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast Disease**. G.L. Wang et al. eds., Springer Netherlands, 179-184. (2008). 査読無