

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18656

研究課題名(和文) 免疫戦略としての植物の糖輸送制御機構

研究課題名(英文) Regulation of sugar transporters as a defense strategy in plants

研究代表者

山田 晃嗣(Yamada, Kohji)

徳島大学・大学院社会産業理工学研究部生物資源産業学域・助教

研究者番号：40587672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：病原体は感染時に主な炭素源として糖を植物から吸収することで増殖する。しかし一方で、病原体の糖摂取に対抗する手段を植物が備えているかは不明であった。本研究では、シロイヌナズナの糖トランスポーター遺伝子破壊株は病原細菌に対して罹病性が高まること、また糖吸収活性は免疫応答活性化時に増強することを見出し、免疫戦略としての糖トランスポーター制御に着目し解析を行った。その結果、糖トランスポーターSTP13が病原体認識受容体と複合体を形成し、リン酸化を受けることで糖吸収活性が増強されることを見出した。本研究により、植物には糖トランスポーターを制御することで病原体の糖摂取を阻止する機構があることが示された。

研究成果の概要(英文)：Pathogens acquire sugars as a main carbon source from host plants. However, it remained unknown whether plants attempt to prevent pathogen's sugar gain, for example, by retrieving extracellular sugars. Here, we found that Arabidopsis plants lacking sugar transporters were more susceptible to pathogenic bacteria, and sugar uptake activity is enhanced during immune activation in Arabidopsis. In addition, we demonstrated that the activity of STP13, a sugar transporter, was regulated via phosphorylation by a pathogen-recognition receptor complex. In this study, we revealed that plants exhibit a defense strategy using sugar transporters to reduce extracellular sugars during pathogen infection.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：植物-病原体間相互作用 糖吸収 植物免疫

1. 研究開始当初の背景

病原体は宿主から栄養を吸収することで増殖する。しかしその一方で、病原体の栄養摂取に対する植物の防御策の存在は不明であった。本研究の予備的知見として、糖トランスポーターSTP1およびSTP13を欠損したシロイヌナズナが病原細菌への高罹病性を示すという結果を得ていた。この結果より、病原細菌への防御と植物の糖吸収活性の関連性が示唆され、本研究では糖トランスポーター制御による植物の防御戦略を着想し、解析を行った。

2. 研究の目的

シロイヌナズナの糖トランスポーターSTP1およびSTP13が細菌抵抗性に寄与することが示唆されたが、防御応答と糖吸収の関連性は不明な点が多かった。そこで防御応答時における糖トランスポーターの制御様式を探り、その意義を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

まず初めに、防御応答時に植物の糖吸収活性が変化するかを調べるために、防御応答活性化時のグルコース吸収活性をシロイヌナズナの植物体を用いて測定した。そして糖トランスポーターの制御機構を探るために、糖トランスポーターの相互作用因子を同定した。また、その制御様式を同定し、細菌抵抗性への寄与を検討した。

4. 研究成果

(1) 防御応答活性化時にシロイヌナズナの糖吸収はSTP13依存的に上昇する。

シロイヌナズナの糖吸収活性が防御応答依存的に変化するかを調べるために、細菌の鞭毛タンパク質・フラジェリン由来のペプチドflg22をシロイヌナズナに処理し、グルコース吸収活性を測定した。その結果、flg22処理によりグルコース吸収活性が増加し、またそれは*stp13*変異体では検出されなかったためSTP13依存的事であることが明らかにされた。

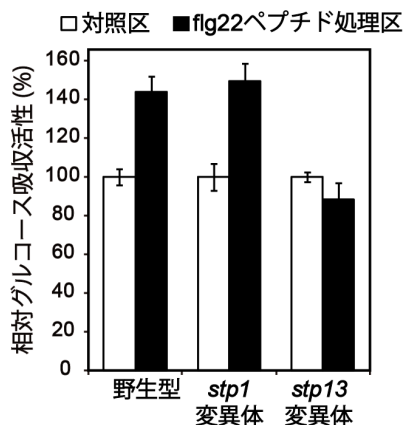


図1 防御応答依存的にシロイヌナズナのグルコース吸収活性が増加する。

シロイヌナズナ実生にflg22を処理し、24時間後にグルコース吸収活性を測定した。

(2) STP13はフラジェリン受容体のFLS2と複合体を形成する。

flg22処理によりシロイヌナズナにおいてSTP13依存的に糖吸収活性の上昇がみられたため、flg22の受容体であるFLS2によりSTP13の糖吸収活性が制御されていることが考えられた。そこでSTP13とFLS2およびFLS2の共受容体であるBAK1との相互作用を共免疫沈降法により調べたところ、STP13はFLS2およびBAK1と相互作用することが見出された。

(3) STP13はBAK1により485番目のスレオニン残基がリン酸化される。

FLS2およびBAK1はキナーゼであるため、STP13はリン酸化により制御されていることが考えられた。そこでin vitroキナーゼ解析によりSTP13がリン酸化されるかを検討した。STP13は12回膜貫通領域をもつタンパク質であり、全長を精製するのは困難であるため、6回目と7回目の膜貫通領域の間にある細胞質内領域およびC末端の細胞質内領域を基質として供した。その結果、BAK1によりSTP13のC末端断片がリン酸化されることが見出された。FLS2はin vitroにおけるキナーゼ活性が非常に弱いことが知られており、今回の解析においてもそのキナーゼ活性を検出することはできなかった。次に、リン酸化部位を特定するためにセリン残基およびスレオニン残基を非リン酸化残基であるアラニン残基に置換することでリン酸化部位を破壊したところ、485番目のスレオニン残基を破壊した際に、BAK1におけるリン酸化が顕著に減少した。

(4) リン酸化を介したSTP13の活性制御は細菌抵抗性に関与する。

STP13の糖吸収活性における485番目のスレオニン残基(T485)のリン酸化の影響を調べるために、T485を疑似リン酸化残基であるアスパラギン酸に置換しSTP13(T485D)を作製した。そして酵母に導入し、グルコース吸収活性を測定したところ、野生型のSTP13に比べてSTP13(T485D)はグルコース吸収活性が増強していることが見出された。そして次に、T485を非リン酸化残基であるアラニン残基に置換しSTP13(T485A)を作製し、*stp1 stp13*変異体に導入した。そして細菌抵抗性を調べたところ、野生型STP13を導入した場合は*stp1 stp13*変異体の高罹病性を相補できたものの、STP13(T485A)の導入では相補することができなかった。この結果より、防御応答活性化時にSTP13はT485のリン酸化を介して糖吸収活性が増強され、細胞外の糖を吸収することで病原細菌の糖摂取を阻害していると考えられた。

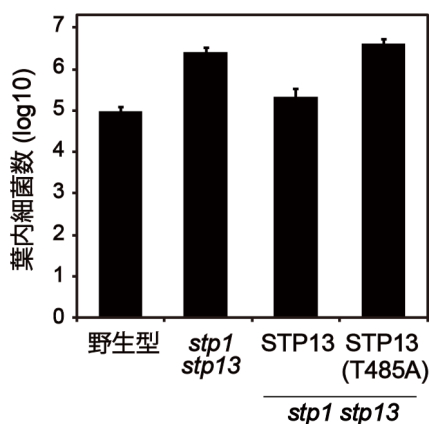


図2、T485のリン酸化を介した活性制御は細菌抵抗性に寄与する。シロイヌナズナの葉に病原細菌を噴霧接種し、接種3日後に葉内細菌数を測定した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

1. Yamada K., Osakabe Y. Sugar compartmentation as an environmental stress adaptation strategy in plants. *Semin. Cell. Dev. Biol. in press* (査読有)
Doi: 10.1016/j.semcd.2017.12.015

2. Yamada K., Osakabe Y., Yamaguchi-Shinozaki K. (2017) A C-terminal motif contributes to the plasma membrane localization of *Arabidopsis* STP transporters. *PLoS ONE* 12(10): e0186326. (査読有)
Doi: org/10.1371/journal.pone.0186326

3. Yamada K., Saijo Y, Nakagami H, Takano Y.(2016) Regulation of sugar transporter activity for antibacterial defense in *Arabidopsis*. *Science* 354, 1427-1430. (査読有)
DOI: 10.1126/science.aah5692

[学会発表](計5件)

- 山田晃嗣 糖吸収制御を介した植物の防御機構の解明 日本植物生理学会札幌コンベンションセンター、2018年3月
- Kohji Yamada, Yusuke Saijo, Yoshitaka Takano. Regulation of sugar transporter activity for antibacterial defense in *Arabidopsis*. Cold Spring Harbor Asia "Latest Advances in Plant Development & Environmental Response", Awaji (Awaji Yumebutai Conference Center), Hyogo, Japan, 2016年11月.

- 山田晃嗣 糖吸収を巡る植物・病原細菌間相互作用 植物細菌病談話会 京都府立大学、2016年10月(招待講演)
- 山田晃嗣 糖吸収を巡る植物・病原体間相互作用 日本植物病理学会 関西支部 若手の会 静岡グランシップ、2016年9月(招待講演)
- Kohji Yamada, Yusuke Saijo, Yoshitaka Takano. Regulation of sugar transporter activity for antibacterial defense in *Arabidopsis*. International society for molecular plant-microbe interactions. Portland (Oregon convention center), Oregon, USA. 2016年7月.

[図書](計4件)

1. 山田晃嗣 糖輸送体の活性制御による植物の新規防御機構の解明, バイオサイエンスとインダストリー, 2018年, Vol.76, No.2, 200頁 (156-157頁)
2. 山田晃嗣, 高野義孝 植物の防御応答の新しい一面 糖トランスポーター制御による細胞外の糖含量コントロール, 2017年, 実験医学, Vol.35, No.6, 3120頁 (974-977頁)
3. 山田晃嗣 植物は病原菌からどのように身を守るのか? 新たな免疫応答メカニズムの解明, 2017年, アカデミストジャーナル <https://academist-cf.com/journal/?p=3212>
4. 山田晃嗣, 高野義孝 植物は細胞外の糖を減少させることにより病原細菌の増殖を抑制する, 2016年, ライフサイエンス論文新着レビュー
DOI: 10.7875/first.author.2016.130

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:

権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 晃嗣 (YAMADA, Kohji)

徳島大学・大学院社会産業理工学研究部生物

資源産業学域・助教

研究者番号：40587672

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()