

令和元年6月5日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15141

研究課題名(和文) 病原菌感染に対する植物の防御システムの分子基盤の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular basis of immune response in plants

研究代表者

高橋 直紀 (TAKAHASHI, Naoki)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：40553623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：植物の病原菌に対する応答機構の理解は、病原菌からの攻撃による植物の防御機構の解明のみならず、耐病性作物の創出にも繋がることが期待される。しかし、細胞内でどのような分子機構が働くことで植物の免疫機構が働いているのかは不明な点が多い。本研究では、植物のDNA損傷応答の中心的役割を果たしているSOG1転写因子が、病原菌に対する防御応答においても重要な役割を果たしていることを新たに見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物は細菌、糸状菌、ウイルスなどさまざまな病原体の脅威に常にさらされている。本研究は、病原菌感染による植物の制御機構を理解することで、病原菌感染に対する植物特異的な応答機構を明らかにし、植物独自の環境応答統御システムを分子レベルで解明する点に意義を持つ。さらに、病原菌感染に対する植物の防御応答機構を自在に制御することで、耐病性技術や新しい植物生産技術の開発へ大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Understanding the mechanism of defense response against pathogen challenge not only leads to elucidation of the molecular basis of immune response of plants, but also leads to the production of disease-resistant crops. However, it has not been clarified that what molecular mechanism is stimulated in response to pathogen challenge. Our studies suggested that the SOG1 transcription factor, which plays a central role in the DNA damage response of plants, plays a crucial role in the defense response to pathogens.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：病原菌 シロイヌナズナ 植物免疫 シグナル伝達 DNA損傷

1. 研究開始当初の背景

植物は、病原菌が共通に持つペクチンや細胞壁構成因子などの物質を細胞膜型免疫センサーが認識し、病原菌の侵入を感知する。その後、植物は病原体の攻撃から身を守るために、様々な防御機構を働かせる。例えば、過敏感反応と呼ばれる防御反応は、病原体の感染部位に小さな病斑を形成し、自発的に自らの細胞を死に至らしめることで、病原体がその部位から広がらないようにする。さらに、病原菌の攻撃により植物組織の一部で過敏感反応などにより病斑が形成されると、全身獲得抵抗性免疫が働くことで、植物体全身で病原体に対する抵抗性が高まる。植物の病原菌に対する応答機構の理解は、病原菌からの攻撃による植物の防御機構の解明に繋がるのみならず、耐病性作物の創出にも繋がることから、植物の免疫メカニズムを分子レベルで明らかにすることは重要な研究課題である。現在までに、免疫センサーを含め防御応答に関わる因子がいくつか単離され、解析が進みつつある。しかしながら、病原菌の侵入を感知した後に、細胞内でどのような分子機構が働くことで過敏感反応や全身獲得抵抗性などの防御応答が誘導されるのか、その仕組みについては不明な点が多い。

2. 研究の目的

移動の自由のない植物は、環境ストレスを絶えず受けその生存を脅かされている。特に、遺伝情報を含む染色体 DNA は、DNA 複製エラーや紫外線、強光、重金属など、様々な要因により損傷を受けることや、塩害や乾燥、高温などの環境ストレスにより発生する活性酸素によっても傷つくことが知られている。現在までに、植物はこれら DNA 損傷に対する独自の応答機構を持っていることが明らかにされており、植物特異的な NAC 型転写因子 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 (SOG1) がその中心的役割を果たしていることが示されている。さらに、SOG1 が細胞周期進行の停止 (5. 雑誌論文①、④) や細胞死、植物ホルモン応答などの DNA 損傷応答の誘導に関わっていることが明らかにされている。

さらに私達は、SOG1 の標的遺伝子の同定を行ったところ、SOG1 が全身獲得抵抗性免疫に関わるということが知られている *FMO1* や、感染シグナル応答に関わるということが同定されている *SAG101*, *OX11* など、複数の免疫関連遺伝子の転写誘導に直接関わることを見出した (5. 雑誌論文③)。加えて、*sog1* 機能欠損変異体は野生型植物に比べて病原菌の感染が広がりやすいことが示された (5. 雑誌論文③)。これらの結果から、SOG1 が病原菌感染に対する防御応答に重要な役割を果たしていることが考えられる。そこで本研究では、SOG1 を中心とした病原菌感染の応答メカニズムを明らかにすることで、植物の防御応答機構の解明を目的に研究を行った。

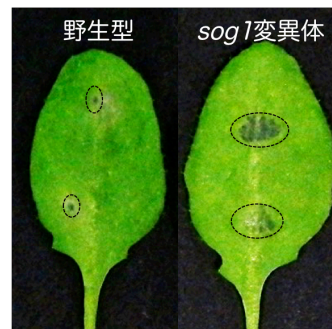


図1. 病原菌感染に対する *sog1* 変異体の表現型

野生型植物に比べ、*sog1* 変異体では感染が広がりやすくなる。点線は病斑を示す。

3. 研究の方法

(1) SOG1 は病原菌感染に応答した防御システムに働いていることが考えられることから、病原菌感染に応答した SOG1 の時空間的な制御機構を明らかにすることで、病原菌感染と SOG1 との関係について調べた。

(2) SOG1 は DNA 損傷に応答して活性化するが、病原菌感染時に SOG1 がどのように働くことで病原菌感染応答を引き起こしているのか明らかにされていない。そこで本研究では、病原菌感染と DNA 損傷との関係や、防御応答における SOG1 シグナルの役割について調べた。

4. 研究成果

(1) SOG1 が病原菌感染に応答してどのように働くことで防御応答を引き起こしているのか調べたところ、病原菌感染後に *SOG1* 遺伝子の転写が著しく誘導されてくることを明らかにした。さらに、*SOG1* 遺伝子の発現誘導と相関するように、SOG1 タンパク質が感染後に蓄積してくることが示された。また、現在までに病原菌が感染するとサリチル酸が蓄積してくることが知られているが、サリチル酸処理により *SOG1* 遺伝子の転写が増加することことが明らかになった。これらの結果から、病原菌感染に応答したサリチル酸の蓄積が SOG1 の増加に関与していることが示唆された。一方で、*SOG1* 遺伝子は DNA 損傷を与えても発現量に変化は見られなかったことから、病原菌感染後の *SOG1* 遺伝子の発現誘導には DNA 損傷ストレスは関与しないことが考えられた。

(2) SOG1 タンパク質は DNA 損傷に応答して活性化することが明らかにされている。そこで、病原菌感染によって DNA 損傷が引き起こされるのかを DNA の断片化を検出する方法である

TUNEL アッセイにより調べた。その結果、病原菌が感染した細胞において DNA の断片化が起きていることを明らかにした。このことから、SOG1 は病原菌が感染した細胞において活性化していることが考えられた。また、以前までの研究により SOG1 の活性化には、C 末端領域に存在する 5 箇所の SQ (セリン-グルタミン) モチーフのリン酸化が必要であることが報告されている。そこで、DNA 損傷に応答した SOG1 のリン酸化が、病原菌感染応答に関与しているか調べるために、SOG1 の非リン酸化植物を作成して病原菌感染応答を調べたところ、*sog1* 変異体と同様に、病原菌に対して弱くなることを明らかにした。これらの結果から、病原菌感染により DNA 損傷が蓄積することで SOG1 のリン酸化および活性化が起き、SOG1 を介した防御応答が引き起こされていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① [Naoki Takahashi](#), Nobuo Ogita, Tomonobu Takahashi, Shoji Taniguchi, Maho Tanaka, Motoaki Seki, Masaaki Umeda. A regulatory module controlling stress-induced cell cycle arrest in *Arabidopsis*. *eLife*、査読有、8 巻、2019、pii: e43944
DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.43944>
- ② Masaaki Umeda, Shiori S Aki, [Naoki Takahashi](#). Gap 2 phase: making the fundamental decision to divide or not. *Current Opinion in Plant Biology*、査読有、51 巻、2019、1-6
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.03.001>
- ③ Nobuo Ogita, Yoko Okushima, Mutsutomo Tokizawa, Yoshiharu Y. Yamamoto, Maho Tanaka, Motoaki Seki, Yuko Makita, Minami Matsui, Kaoru Okamoto-Yoshiyama, Tomoaki Sakamoto, Tetsuya Kurata, Kei Hiruma, Yusuke Saijo, [Naoki Takahashi](#), Masaaki Umeda. Identifying the target genes of SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1, a master transcription factor controlling DNA damage response in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*、査読有、94 巻、2018、439-453
DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.13866>
- ④ Poyu Chen, Hiroto Tomo Takatsuka, [Naoki Takahashi](#), Rie Kurata, Yoichiro Fukao, Kosuke Kobayashi, Masaki Ito, Masaaki Umeda. *Arabidopsis* R1R2R3-Myb proteins are essential for inhibiting cell division in response to DNA damage. *Nature Communications*、査読有、8 巻、2017、635
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00676-4>

[学会発表] (計 6 件)

- ① [高橋直紀](#)、荻田伸夫、高橋知伸、谷口昌司、梅田正明「ストレスに応答した細胞周期停止の制御機構の解明」第 60 回日本植物生理学会年会、2019 年
- ② 高橋知伸、荻田伸夫、谷口昌司、[高橋直紀](#)、梅田正明「ストレスに応答した細胞周期停止における ANAC044 および ANAC085 の役割の解析」第 60 回日本植物生理学会年会、2019 年
- ③ [高橋直紀](#)、荻田伸夫、梅田正明「植物のストレスに応答した細胞周期停止の分子機構」日本遺伝学会第 90 回大会、2018 年
- ④ [Naoki Takahashi](#), Nobuo Ogita, Masaaki Umeda 「DNA damage activates two distinct signaling pathways controlling DNA repair and cell cycle arrest」Plant Genome Stability and Change 2018 (国際学会)、2018 年
- ⑤ Xiaojuan Zhang, [Naoki Takahashi](#), Masaaki Umeda, Marta Garcia-Leon, Vicente Rubio, Mika Nomoto, Yasuomi Tada, Tsuyoshi Furumoto, Takashi Aoyama, Tom Tsuge 「Molecular analyses of CFI 25 in plant 3'-UTR length determination」日本光生物学協会 第 20 回年会、2018 年
- ⑥ [高橋直紀](#)、荻田伸夫、高橋知伸、谷口昌司、梅田正明「ANAC044 および ANAC085 は DNA 損傷による細胞周期の停止に重要な役割を果たす」第 59 回日本植物生理学会年会、2018 年

[その他]

<プレスリリース>

「細胞増殖を止めてストレス対策をする植物独自の仕組みを解明 ～環境の変化に負けない、食糧や植物バイオマスの安定的生産に期待～」2019 年 4 月 5 日

「DNA に傷が入った時に働く植物独自の遺伝子群を解明 ～病原菌の感染など環境のストレスに強い農作物の作出に期待～」2018 年 2 月 21 日

「植物はDNAに傷を負うと成長を一時停止させる仕組みをもっている ～ストレスに自在に対応する新たなメカニズムを解明・食糧や植物バイオマスの増産に期待～」2017年9月22日

<ホームページ>

植物成長制御研究室

<http://bsw3.naist.jp/umeda/>

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。