

令和 3 年 8 月 20 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19334

研究課題名（和文）植物の葉面構造に基づく新奇免疫システムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the novel immune system initiated from the leaf surface

研究代表者

多田 安臣（Tada, Yasuomi）

名古屋大学・遺伝子実験施設・教授

研究者番号：40552740

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：トライコーム依存的な免疫系の普遍性を示すために、葉面構造が互いに異なる多種多様な植物に対して機械刺激処理を行い、機械刺激誘導性免疫の典型的な応答としてMAPKの活性化を調査した。その結果、多様な植物種においても機械刺激依存的な防御応答が生じることを示唆する結果を得た。また、多様な植物に対して機械刺激を与え、RNA-seq解析に供試した。各植物種において、シロイヌナズナにおける機械刺激応答性遺伝子のホモログ遺伝子を決定し、それらの応答を調査したところ、機械刺激を与えたサンプルでは有意に発現が上昇した。また、GO解析を行ったところ、多くの植物において機械刺激は植物免疫を活性化することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トライコーム依存的な免疫システムは、PTI及びETIに先んじて誘導される第1層目の疾病防御機構として確立されることが期待される。トライコーム非保有植物種においては、他の免疫システムを獲得し、病原体の侵入を阻害していると考えられる。本研究は、植物の形態に基づく新奇な植物免疫システムを明らかにする極めて挑戦的な課題であり、基礎研究から疾病防除法の開発にも貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To clarify if the trichome-dependent immune system is a general response, a wide variety of plants with different leaf structures were subjected to mechanical stimulation. We found MAPK activation as a typical response of mechanosensitive immunity. Then, various plants were mechanically stimulated and used for RNA-seq analysis. In each plant species, the homologs of the mechanosensitive genes identified in *Arabidopsis thaliana* were confirmed. The expression levels of these genes were significantly increased in most samples. Finally, GO analysis revealed that mechanical stimulation activates plant immunity in these plants.

研究分野：植物免疫

キーワード：植物免疫 機械刺激 物理刺激 トライコーム 情報伝達

1. 研究開始当初の背景

自然免疫は、多細胞生物に広く保存された先天性の免疫機構であり、固着性の生活を営む植物では、自然免疫に加えて独自の疾病防御機構(免疫システム)が発達してきた。自然免疫としては、病原体由来の細胞壁構成成分やべん毛などの Microbe-Associated Molecular Pattern (MAMP) を細胞表面の Receptor-Like Kinase (RLK) が認識し、Pattern-Triggered Immunity (PTI) が活性化される。PTI が十分機能しないような強い病原性を持つ病原体に対しては、病原体が分泌する Effector (毒性物質) を抵抗性遺伝子 (R) 産物が認識し、植物のプログラム細胞死を伴う極めて強い免疫経路を活性化することで、寄生関係の樹立を阻害する。これら既知の自然免疫機構は、上述のように RLK と R 産物といった受容体によって活性化し、大部分の微生物の感染行動を阻害する。一方、個々の植物が持つ受容体の数は数百種と限定的であり、自然界に存在する数十万種以上の潜在的な病原体を全て認識することは不可能であると考えられるが、それにも拘らず植物は大部分の微生物の感染を阻害することができる。

そこで申請者は、自然免疫に係る受容体数の問題から、「植物は既知の自然免疫機構以外の免疫システムを持つのではないかと推察した。この推定の免疫システムは、あらゆる病原体の感染時に普遍的に生成される因子を認識することで活性化すると考えられ、その探索を行った。その結果、植物は葉面上の毛状突起であるトライコームが機械刺激のセンサーとして機能し、雨などの刺激を感知し、一過的に免疫システムを活性化することを明らかにした。多くの病原体は、雨滴に伝播されて感染するため、植物はこれらの物理的刺激を緊急シグナルとして捉えているのではないかと推察している。

2. 研究の目的

固着性の生活環を営む植物は、温度、光、水、微生物や害虫などの環境刺激を感知し応答する独自の能力を発達させてきた。それらの細胞応答の多くは、植物ホルモンや微生物の構成成分である MAMP が受容体によって認識されることで生じる。一方、植物が有する形態的特徴は、これら環境刺激の認識や応答に重要であると推察されるが、その機能や分子機構の多くは明らかになっていない。

我々は、植物葉面の毛状突起であるトライコームが、雨などの物理的刺激(機械刺激)を感知するセンサーとして機能し、植物免疫を一過的に活性化することを見出した。植物病原菌やウイルスの多くは、雨滴によって伝播されるため、植物はトライコームに負荷される機械刺激を介して病原体の襲来を予測し、病原体が感染行動を起こす前に疾病防御機構を活性化すると考えられる。これまで広く研究されてきた植物の自然免疫は、この機械刺激が活性化する防御機構を打破した病原体に効果を発揮するものであると考えることもできる。

一方、トライコームを持たない植物種における感染防御戦略は、それを持つものと大きく異なっていると考えられる。例えば、トライコームを持たない植物では、葉面のクチクラ層の厚さや撥水効果などの物理化学的特性による防御力を強化し、病原体の侵入や付着を阻害している可能性がある。本研究の目的は、トライコーム依存的な免疫システムの普遍性と、トライコーム非保有植物種における代替防御システムについて調査し、葉面構造に基づく新奇な感染防御戦略を明らかにすることである。

3. 研究の方法

実験項目) 多種多様な植物の機械刺激応答能の調査

トライコームを持つ野生型シロイヌナズナの葉は、ブラシを用いた機械刺激により疾病防御応答関連の遺伝子群を発現するが、トライコーム欠損変異体 *gl1* では著しく低下することを見出した。そこで、トライコーム依存的な免疫系の普遍性を示すために、葉面構造が互いに異なる多種多様な植物トマト、キュウリ、オクラ、バジル、アサガオ、エンドウマメ、綿花、オジギソウ、ミニヒマワリ、フウセンカズラ、ルーピン、カボチャに対して機械刺激処理を行い、RNA-seq による遺伝子発現解析を行う。同時に、葉面構造を実体顕微鏡で観察し、トライコームの密度や構造を明らかにする。

また、初期防御応答のマーカーとして MAPK の活性化も、機械刺激を与えた各種植物葉をサンプリングの後、ウエスタンブロットによって調査する。

4. 研究成果

トライコームを持つ野生型シロイヌナズナの葉は、雨やブラシを用いた機械刺激により疾病防御応答関連遺伝子群を発現誘導するが、トライコーム欠損変異体 *gl1* では著しく低下すること

を見出した。また、植物葉は、物理刺激を受けるとトライコーム依存的なカルシウムウェーブと、カルシウム依存的な防御応答を誘導することも明らかにした。そこで、トライコーム依存的な免疫系の普遍性を示すために、葉面構造が互いに異なる多種多様な植物に対して機械刺激処理を行い、機械刺激誘導性免疫の典型的な応答として MAPK の活性化をウエスタンブロットで調査した。その結果、トマト、キュウリ、オクラ、バジル、アサガオ、エンドウマメ、綿花、オジギソウ、ミニヒマワリ、フウセンカズラ、ルーピン、カボチャなどの穀類や野菜、その他の植物種においても機械刺激依存的な防御応答が生じることを示唆する結果を得た。

また、上記全ての植物に対して機械刺激を与え、15 分後に回収し、RNA-seq 解析に供試した。レファレンスとなる植物種にマッピング後、各植物種において、シロイヌナズナにおける機械刺激応答性遺伝子 *TCH2*, *TCH4*, *WRKY33*, *WRKY40*, *WRKY53*, *CBP60g*, *MYB51* などのホモログ遺伝子を決定し、それらの応答を調査したところ、mock 処理と比較し、機械刺激を与えたサンプルでは有意に発現が上昇した。また、Gene Ontology 解析を行ったところ、多くの植物において機械刺激は植物免疫を活性化することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mamoru Matsumura, Mika Nomoto, Tomotaka Itaya, Yuri Aratani, Mizuki Iwamoto, Takakazu Matsuura, Yuki Hayashi, Toshinori Kinoshita, Izumi C Mori, Takamasa Suzuki, Shigeyuki Betsuyaku, Steven H Spoel, Masatsugu Toyota, Yasuomi Tada	4. 巻 -
2. 論文標題 Mechanosensory trichome cells evoke a mechanical stimuli-induced immune response in plants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.06.13.448005	査読の有無 無
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

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松村 護
2. 発表標題 雨は植物のもつトライコーム依存的な機械刺激誘導性免疫を活性化する
3. 学会等名 新学術領域研究「植物の成長可塑性を支える環境認識と記憶の自律分散型統御システム」第4回若手の会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松村 護
2. 発表標題 雨はシロイヌナズナの初期免疫応答を惹起する
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 多田 安臣
2. 発表標題 Rain evokes a primitive immune response in plants
3. 学会等名 SAN YAT-SEN UNIVERSITY（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 多田 安臣
2. 発表標題 Rain evokes a primitive immune response in plants
3. 学会等名 Joint-degree symposium of NU and EU (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松村 護
2. 発表標題 トライコーム依存的な植物免疫における力学的特性の解明
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松村 護
2. 発表標題 力学的刺激受容センサーとしてのトライコームを介する新奇植物免疫系に関する解析
3. 学会等名 植物の力学的最適化戦略に基づくサステナブル構造システムの基盤創成 ~植物構造オプト~ 第2回若手の会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 優佳
2. 発表標題 トライコーム依存的な力学的刺激誘導性免疫に関与するカルシウムイオンチャネルの解析
3. 学会等名 植物の力学的最適化戦略に基づくサステナブル構造システムの基盤創成 ~植物構造オプト~ 第2回若手の会
4. 発表年 2020年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
英国	University of Edinburgh			