

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22430

研究課題名(和文)エコタイプの進化における植物免疫応答と成長のトレードオフレベルの最適化

研究課題名(英文)Tradeoff levels between pathogen responses and plant growth in Arabidopsis ecotypes

研究代表者

柿本 辰男(Kakimoto, Tatsuo)

大阪大学・理学研究科・教授

研究者番号：70214260

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文):植物が病原体応答と植物の成長はトレードオフの関係にあり、環境に応じて最適なトレードオフレベルは異なっている。1001Genomeで収集されたシロイヌナズナの系統を用い、病原体シグナルとして鞭毛蛋白質フラジェリンの部分配列flg22への応答性の成長抑制を調べたところ、系統ごとに応答は大きく違っていた。北米においては、五大湖の周辺ではflg22応答が弱い系統が集中していた。スウェーデンで採取されたシロイヌナズナのうち150系統についてゲノムワイド関連解析を行ったところ、フラジェリン受容体であるFLS2遺伝子座付近と強い相関が見出された。現在、多くの系統でFLS2遺伝子の配列の解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種内にはvariation(変異)が存在し、それぞれの形質の環境への適応度に応じ、それぞれの地域での各変異の頻度が違っている。一般的には特有の複数の形質の組み合わせの適応度の違いが結果として隔離を引き起こし、エコタイプ(生態型)が生まれる。本研究で見られた変異が、いわゆるエコタイプ形成に至っているのかどうかは今後の課題であるが、本研究は基本免疫応答の種内の多様性を明らかにしたもので、進化の研究に新たな視点をもたらす可能性がある。

研究成果の概要(英文):We treated Arabidopsis accessions of with a flagellin fragment, flg22 and examined growth repression. The growth repression levels by flagellin were highly diverse. Many accessions around the Great Lakes of USA showed no or only weak responses to flg22. A genome-wide association study revealed that the trait was associated with the chromosomal region near FLS2, coding for the flagellin receptor. This study revealed that partial or complete loss of FLS2 may contribute to the fitness in specific environments.

研究分野: Plant Science

キーワード: defense pathogen growth Arabidopsis ecotype FLS2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種内 variation (変異) は、各環境における適応度に応じ多頻度で存在し、これが安定したものとなれば、環境型 (エコタイプ) が成立する。変異は、特性によっては、ある地域を独占することなく、ある程度の占有率になることが安定である場合もあるかもしれない (これを環境型と呼ぶかどうかの定義は明確ではない)。環境型の研究は古くから様々な生物種で行われてきたが、ゲノムシーケンスのコストが下がったことで研究の可能性が大きく広がった。また、シロイヌナズナの国際プロジェクト 1001Genomes (<https://1001genomes.org/>) で、様々な場所で採取された約 1000 系統 (アクセッション) のシロイヌナズナ種子と、ゲノムデータが公開された。これにより、エコタイプ や多型の研究環境が整った。植物の免疫応答の多様性と環境の関係についての大規模な研究は私が知る限りない。

2. 研究の目的

植物は、病原体に対して 2 種の応答を行う。一つ目は多くの微生物に共通する分子パターンを認識する Pattern triggered immunity (PTI) であり、もう一種は、特定の病原体のエフェクターを認識する Effector triggered immunity (ETI) である。植物の免疫応答は病原体を抑制する一方で、植物の成長を抑制するトレードオフの上に成り立っている。従って、植物にとって適切な免疫応答の強度 (特に PTI に関しては) は生息環境に依存すると考えられる。本研究では、様々な生息地における PTI による成長抑制の強さを調査し、その多様性とエコタイプ への進化をゲノムレベルで理解することである。

3. 研究の方法

1001Genomes に属するシロイヌナズナ系統は、Nottingham Arabidopsis Stock Centre から入手した。採取地の緯度経度情報は 1001Genome project の提供情報を利用した。これらのシロイヌナズナの系統をフラジェリンの部分配列ペプチド FLG22 (1 μ M) 存在下で育て、葉の面積と根の長さを測定した。GWAS 解析は、<https://gwas.gmi.oeaw.ac.at/> で行った。Ler/Col Lister & Dean Recombinant Inbred 系統は Arabidopsis Biological Resource Center から入手した。

4. 研究成果

1) 世界のシロイヌナズナ系統の flg22 応答は様々である。

世界各地から採取されたシロイヌナズナ系統からまず、151 系統の flg22 による成長抑制を調べたところ、大きなばらつきが見出された。なお、葉の成長抑制と根の成長抑制には正の相関があるので、ここでは根の成長抑制のデータについて議論する。興味深いことに、アメリカの五大湖周辺とスウェーデン南部に flg22 応答が弱い (成長抑制が小さい) 系統が多く見出された (図 1)。各系統の採取地の分類 (森林、畑地、道端など) と flg22 応答の強さの関連も調査し、草地や道端は応答が強いものが多く、畑地は応答が弱いものが多い印象があるが、統計的な処理が困難であるので断定はできない。雨量や気温との相関も明確に断定できるものはなかった。



図 1. flg22 による成長抑制の強さ。1 μ M の flg22 による成長抑制は、25% 以下 (Level 1)、25-50% (level 2)、50-75% (level 3)、75%-100% (level 4)。

2) スウェーデンにおいては、flg22 応答が小さい系統は南部に偏在していた。

スウェーデンで採取されたシロイヌナズナ系統が充実しているため、これらの系統で詳しい調査を行った。成長抑制の弱い (flg22 耐性の) 系統はスウェーデンの南部に多く見られた。近傍の地域でも、様々な flg22 耐性の系統が見られた。一方、スウェーデン北部では flg22 による成長抑制が強い系統が大勢を占めた。

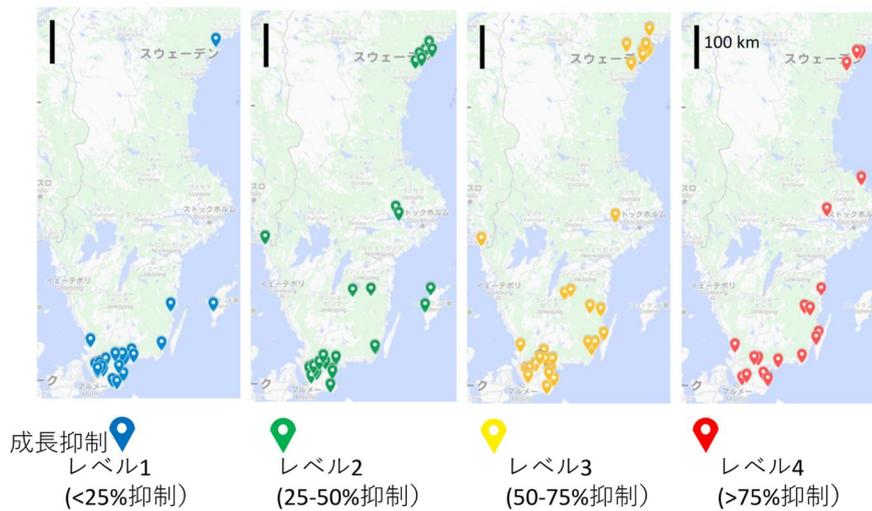


図2. スウェーデンのシロイヌナズナのflg22による成長抑制

3) スウェーデンの系統を用いた GWAS 解析

スウェーデンの 171 系統のデータを用いて GWAS 解析を行ったところ、flg22 による成長抑制の特性は、染色体 5 番の 18.78Mb-18.88Mb の領域と強い相関があった。この領域には flg22 の受容体をコードする FLS2 遺伝子が存在する。1001Genome のシロイヌナズナ 系統では、多くの系統で GWAS 解析を行うには十分なゲノム情報があるが、個別に見るとシーケンスには多くのエラーがある。そこで、成長抑制が強かった系統と、弱かった系統について FLS 遺伝子の塩基配列解析を進めている。

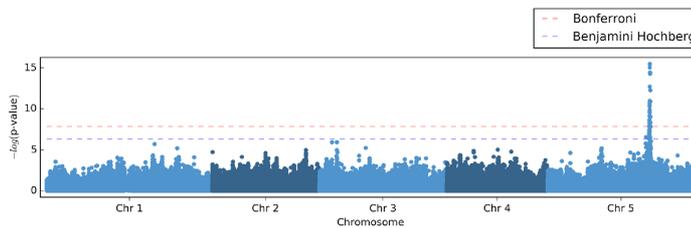


図3. スウェーデンの系統を用いたGWAS解析。染色体5番(Chr5)の18.78Mb-18.88Mbにflg22による成長抑制との間の強い相関が見られた。この領域にはFLS2遺伝子座が存在する。

5) Ler 系統と Col 系統の flg22 応答の違いをもたらす遺伝子座の決定の試み

多くの系統間の flg22 応答の違いを解析する研究に加え、特定の 2 つの系統間の flg22 応答の違いを生み出している遺伝子座を決定する研究も行った。Col に比べて、Ler は明らかに flg22 に強く応答し、Ler/Col 組換え近交系統(RI 系統)でも flg22 応答レベルは明確に Col タイプと Ler タイプに分離するので、これらの表現型の違いをもたらす遺伝子座を決定しようと考えた。Lister&Dean の RI 系統群を用いて解析した結果、原因遺伝子が一つであるとした時に第 5 染色体の特定の領域の約 250kbp の範囲に限定され、その領域に含まれて多型がある遺伝子について相補実験も行うなどしたが、遺伝子の特定には至らなかった。

今後の展望：flg22 応答には系統間でかなりの差があることが明らかになった。現在は、免疫応答による成長抑制を測定しているが、免疫の初期応答をいくつかの指標やマーカーを元に解析することも必要であると考えている。今後は FLS2 遺伝子などの解析を進め、変異が確定できればそのうちのどれだけが起源を共にするものであるのかを知る必要がある。また、特定地域でもっと密に採取を行ってアレルの割合のクラインを調べることも行いたい。北米の五大湖周辺では flg22 耐性の系統が広がっており、その原因が FLS2 遺伝子にあるのかも解明するとともに、これが広い範囲に生息する一つのエコタイプと考えて良いのかも解明したい。中間的な flg22 応答を持つ系統のゲノム解析も進めていく予定である。様々な環境における適応度の実験的測定も進め、免疫応答と成長のトレードオフレベルの進化をより深く理解したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsuura Yuki, Fukasawa Narumi, Ogita Kosuke, Sasabe Michiko, Kakimoto Tatsuo, Tanaka Hirokazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Early Endosomal Trafficking Component BEN2/VPS45 Plays a Crucial Role in Internal Tissues in Regulating Root Growth and Meristem Size in Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1027
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.01027	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 Zhang Y, Mitsuda N, Yoshizumi T, Horii Y, Oshima Y, Ohme-Takagi, M, Matsui M, Kakimoto, T.	4. 巻 17
2. 論文標題 Two types of bHLH transcription factor determine the competence of the pericycle for lateral root initiation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 633-643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41477-021-00919-9	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 該当する
1. 著者名 Zhang Y, Umeda M, Kakimoto T.	4. 巻 39
2. 論文標題 Pericycle cell division competence underlies various developmental programs.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 29-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.21.1202a	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 Qian P, Song W, Zaizen-Iida M, Kume S, Wang G, Zhang Y, Kinoshita-Tsujimura K, Chai J, Kakimoto T	4. 巻 -
2. 論文標題 A Dof-CLE circuit controls phloem organization.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Plants, accepted	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） なし	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 該当する

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 柿本辰男
2. 発表標題 Regulation of vascular development by CLE peptides
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 Transcription factors that govern the stem-cell-like features of pericycle
3. 学会等名 第61回 日本植物生理学会 サテライトシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ハスチムグ、柿本辰男
2. 発表標題 ROP interactive partners (RIPs) regulate microtubule dynamics and orientation of cell division in the leaves
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ye Zhang , Nobutaka Mitsuda , Takeshi Yoshizumi , Yoko Horii , Yoshimi Oshima , Masaru Ohme-Takagi , Minami Matsui , Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 PFAs and PFBs, two types of bHLH proteins, determine the competence of pericycle for lateral root initiation
3. 学会等名 国際シンポジウム Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ハス其木格, 柿本辰男
2. 発表標題 シロイヌナズナの葉形態形成におけるRIPタンパク質の機能解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ye Zhang, Nobutaka Mitsuda, Takeshi Yoshizumi, Youichi Kondou, Masaru Takagi, Minami Matsui, Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 Identification of key transcription factors that determine pericycle stem cell identity in Arabidopsis.
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ハスチムグ、柿本辰男
2. 発表標題 ROP interactive partners (RIPs) regulate microtubule dynamics and orientation of cell division in the leaves.
3. 学会等名 第62回植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ye Zhang, Nobutaka Mitsuda, Takeshi Yoshizumi, Yoko Horii, Yoshimi Oshima, Masaru Ohme-Takagi, Minami Matsui, Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 PFAs and PFBs, two types of bHLH proteins, determine the competence of pericycle for lateral root initiation
3. 学会等名 国際シンポジウム Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柿本辰男
2. 発表標題 転写因子-ペプチド-受容体-転写因子フィードバックループによる篩部パターン形成の仕組み
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回 講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田紗苗 柿本辰男
2. 発表標題 側根原基形成における局所的なオーキシン生合成の役割
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本凜、柿本辰男
2. 発表標題 シロイヌナズナの側根形成初期に発現するGATA23遺伝子の破壊株の解析
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田紗苗, 柿本辰男
2. 発表標題 側根原基形成における局所的なオーキシン生合成の役割
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022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			
ドイツ	Max Plank Institute			
中国	清華大学			