

様式3

令和元年度愛媛大学プロテオサイエンスセンター共同研究報告書

令和2年2月5日

国立大学法人愛媛大学
プロテオサイエンスセンター長 殿

研究代表者

所属機関 : 東京理科大学 _____

部局・職名 : 基礎工学部生物工学科・教授 _____

氏名 : 有村 源一郎 _____

1. 研究課題

害虫由来エリシターを介した植物の防御応答メカニズムの解明

2. 研究組織

氏名	所属機関・部局	職名	分担内容
研究代表者	有村 源一郎	教授	HAK/PBL27 の分子機能の解明
研究分担者	澤崎 達也	教授	HAK/PBL27 の相互作用解析
	野澤 彰	講師	HAK/PBL27 の相互作用解析

3. 研究成果

別紙のとおり

研究課題名：害虫由来エリシターを介した植物の防御応答メカニズムの解明

東京理科大学基礎工学部生物工学科・教授

有村 源一郎

研究目的

植物は害虫が分泌する唾液成分（エリシター）を認識することで、特異的な防御応答を誘導することができる。害虫の唾液内に含まれるエリシターは植物の防御応答を誘導する分子であり、寄主植物のシグナル伝達ネットワークにおけるエリシターの特異的作用などが示唆されている。しかし、これらのエリシターの認識に関わる分子機構の解明は立ち遅れている。そこで本研究では、害虫のエリシターと植物のエリシター受容機構に関わるシグナル伝達因子の同定および機能解明を目的に、ハスモンヨトウ唾液内に含まれるオリゴ糖エリシターとダイズとシロイヌナズナにおける細胞内シグナル伝達因子 Herbivore danger signal-Associated receptor-like Kinases (GmHAK および AtHAK) の同定を試みた。さらに、HAK と相互作用するタンパク質の同定と下流シグナル伝達系ネットワークの解明を試みた。これらの試みは、植物-植食者間相互作用研究における萌芽的挑戦であり、生態系コミュニケーションの分子機能解析のためのプラットフォームの構築につながる。

研究内容

Spodoptera 属ハスモンヨトウ の吐き戻し液 (Oral Secretion: OS) 内に含まれるオリゴ糖エリシター精製画分 (FrA および Fr α) の応答に関与する、細胞外領域にロイシンリッチリピート (LRR) および proline-rich sequence をそれぞれ持つダイズ受容体様キナーゼ (GmHAK1 と GmHAK2) および、これらのシロイヌナズナのオーソログ AtHAK1 を同定した。これらの HAK は下流因子である細胞内受容体キナーゼ PBL27 と相互作用することで、エリシター依存性防御応答を活性化することが示唆された。

研究成果

エリシターの精製および生理機能の解明

ハスモンヨトウ OS をサイズ排除クロマトグラフィーによって段階的に精製し、防御遺伝子の発現量を増やすエリシター精製画分 (FrA および Fr α) を得た。この分画は高分子 (>15 kDa) であり、NMR やメチル化解析等によって糖含有化合物が含まれることが判明した。

さらに、等温滴定型カロリメトリー (ITC) 解析により、ダイズ GmHAK1 と GmHAK2 は Fr α とは直接相互作用せず、エリシターと結合する受容体の共受容体もしくは下流シグナル伝達因子として機能する可能性が示唆された。

シロイヌナズナ AtHAK1 の相互作用因子 AtPBL27 の機能解明

病原菌エリシター初期応答において役割を担うシロイヌナズナ細胞内因子の欠損株 4 系統にハスモンヨトウ幼虫唾液内のエリシター活性分画を処理した。その結果、細胞

内受容体キナーゼ PBL27 の欠損株において防御遺伝子 *PDF1.2* の発現量が、野生株と比較して有意に低下したため、PBL27 は害虫エリシター誘導に伴った防御応答に役割を担う分子である可能性が示唆された。アルファスクリーニングシステムを用いた分子間相互作用解析ならびに BiFC 法を用いた植物葉細胞におけるタンパク質間相互作用解析から、PBL27 は AtHAK1 と植物細胞膜上で相互作用することで、防御応答を活性化することが示唆された。さらに、エリシター精製画分処理された *pb127* および *athak1* 変異株では、防御応答において中心的な役割をになるジャスモン酸の生合成は野生株同様に誘導されたものの、エチレン生産量は野生株よりも低かった。両変異体におけるエチレン感受性には変化がなかったことから、AtHAK1 および PBL27 は害虫エリシター応答においてエチレン生合成を制御する分子であることが示唆された。

成果発表

< 学術論文 >

Miyamoto T., Uemura T., Nemoto K., Daito M., Nozawa A., Sawasaki T., Arimura G. (2019) Tyrosine kinase-dependent defense responses against herbivory in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science* 10:776

Ali M.R.M., Uemura T., Ramadan A., Adachi K., Nemoto K., Nozawa A., Hoshino R., Abe H., Sawasaki T., Arimura G. (2019) The ring-type E3 ubiquitin ligase JUL1 targets the VQ-motif protein JAV1 to coordinate jasmonate signaling. *Plant Physiology* 179:1273-1284

有村源一郎, 上村卓矢, 八代拓也 (2019) 植物アロマ成分を用いた有機栽培システムの開発とヒト健康増進効果への応用. *化学と生物* 57:428-432

< 国内学会発表 >

第 61 回日本植物生理学会年会

開催日: 2020 年 3 月 19-21 日

場所: 大阪大学

表題: 食害応答における受容体型細胞内タンパク質キナーゼ PBL27 の機能解明

発表者: 伊藤綾華、上卓卓矢、佐野友香、星野稜介、出崎能丈、Ivan Galis、Kadis Mujiono、野澤彰、澤崎達也、有村源一郎

表題: シロイヌナズナの食害応答を制御する糖エリシターの受容機構の解明

発表者: 佐野友香、上村卓矢、伊藤綾華、星野稜介、出崎能丈、野澤彰、澤崎達也、有村源一郎

センシング技術コンソーシアム 第 30 回講演会

開催日: 2020 年 2 月 17 日

場所: 愛知県産業労働センター(ウインクあいち)

表題: 植物の香りの機能と応用

発表者: 有村源一郎

第 87 回白鷺セミナー

開催日: 2019 年 12 月 13 日

場所: 大阪府立大学

表題: 植物と昆虫が織りなす化学コミュニケーション

発表者：有村源一郎

化学コミュニケーションのフロンティア 第6回公開シンポジウム

開催日：2019年12月9-10日

場所：慶應義塾大学

表題：植物の害虫エリシター受容システムと防御応答誘導機構の解明

発表者：有村源一郎

<国際学会発表>

Frontiers in plant environmental response research

Local signaling, long-distance communication and memory for developmental plasticity

開催日：2019年11月18-19日

場所：名古屋大学

表題：The host plant recognition system for spider mite elicitors Tetranins.

発表者：Yasuno A., Tanimura K., Takafuji K., Iida J., Abe H., Desaki Y., Arimura G.

今後の課題

RLKファミリーは、細胞膜において他のRLK分子（ハブタンパク質）とヘテロ二量体を形成することで受容体として機能することが知られる。故に、シロイヌナズナのRLK cDNAライブラリー等を用いてAtHAKタンパク質と相互作用し、オリゴ糖エリシター精製画分（FrAおよびFr α ）と結合する受容体タンパク質のの道程を試みたい。さらに、我々が近年同定したナミハダニのペプチドエリシター（Tet）の受容体タンパク質およびシグナル伝達因子の同定を試みることで、様々な植物の食害色応答システムの解明を目指す。

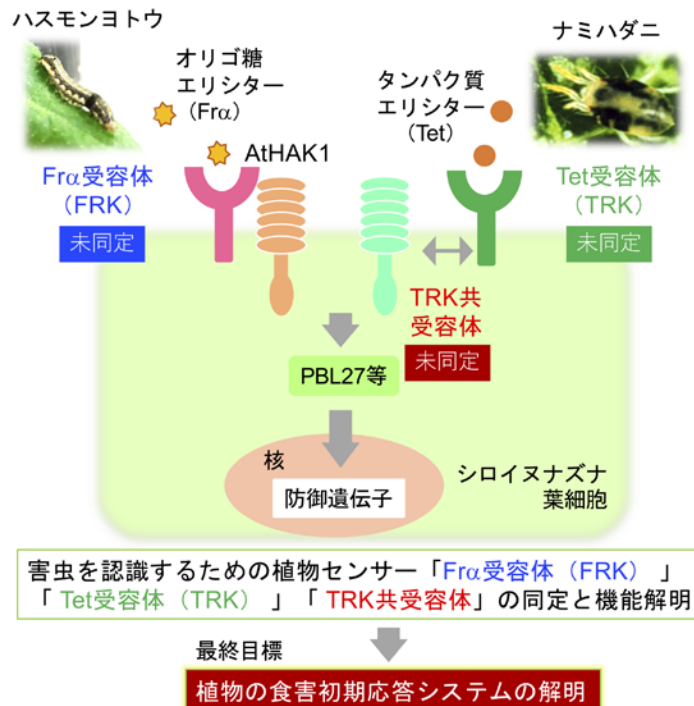


図1 今後の研究モデル