

様式3

平成30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

平成31年2月28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・准教授

氏名：有村 源一郎

1. 研究課題

植物の被食害認識のためのエリシター受容機構

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	准教授	エリシター受容体の分子機能の解明
研究分担者	澤崎 達也	教授	エリシター受容体の相互作用解析
	野澤 彰	講師	エリシター受容体の相互作用解析

3. 研究成果

別紙のとおり

研究課題名：植物の被食害認識のためのエリシター受容機構

東京理科大学基礎工学部生物工学科・准教授

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特異的作用などが示唆されている。しかし、エリシターの認識に関わる受容体タンパク質は未だ発見されていない。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体を標的に、植物-害虫間コミュニケーションの分子基盤を紐解く。本研究では受容体タンパク質の機能を詳細に明らかにするために、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・シロイヌナズナ HERK の分子間相互作用および、エリシター認識時に受容体複合体を形成する相互作用タンパク質の同定、下流シグナル伝達系ネットワークの解明を試みる。これらの試みは、これまで植物-植食者間相互作用研究において唯一未解明であった新規分子の発見に挑戦す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* 属ヨトウガの唾液内に糖エリシターが存在する可能性から、GERK1 遺伝子の相同性ダイズ RLK (Receptor-Like Kinase) に着目し、ハスモンヨトウ唾液成分の認識に関わるダイズ受容体タンパク質 (Herbivore Elicitor Receptor Kinase [HERK]; GmHERK1、GmHERK2) を同定した (Uemura et al. 投稿中)。一方で、ハスモンヨトウは広食性の植食者であることから、HERK はマメ科植物であるダイズのみならず他植物にも広く存在する可能性があるため、本研究ではダイズ (GmHERK) に加え、遺伝子・植物体リソースが充実したシロイヌナズナ (アブラナ科) における HERK の同定を試みた。

### 研究成果

#### エリシターの精製および解析

GmHERK 候補である GmHERK1、2 のリガンドであるハスモンヨトウ吐き戻し液 (Oral Secretion: OS) 内のエリシターの化学的性質を明らかにした。サイズ排除クロマトグラフィーなどの段階的な精製から、防御遺伝子の発現量を高めるフラクション A および  $\alpha$  を精製した。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、フラクション A をプロテアーゼ、熱処理した結果、タンパク質・ペプチド類はエリシター活性に貢献しないことも見出された。

さらに、GmHERK との結合は等温滴定型カロリメトリー (ITC) 解析により、GmHERK1 はフラクション  $\alpha$  と結合することが示された。

## ダイズにおける GmHERK の機能同定

ダイズ植物個体における GmHERK の機能を同定するために、リンゴ小球形潜在ウイルスベクター (ALSV) を用いた HERK ノックダウンダイズ株を作出した。HERK ノックダウンダイズでは、フラクシオン  $\alpha$  を処理することで誘導される防御遺伝子 *PR* の発現量が野生株と比較し、有意に低下した。また当該ノックダウン株はハスモンヨトウ幼虫による食害被害が増加したことから、GmHERK がダイズにおいて、害虫エリシター受容体として機能することが明らかになった。

## シロイヌナズナにおける AtHERK の機能同定

モデル植物であるシロイヌナズナにおける AtHERK の発掘および AtHERK による害虫エリシター認識機構の解明を試みた。ダイズ HERK 相同性遺伝子である AtHERK 候補遺伝子の欠損変異株 (5 系統 : *r/k1*~*5*) に、ハスモンヨトウ幼虫の OS およびフラクシオン A を機械傷と共に処理したところ、*r/k2* 系統 (*atherk1*) 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。一方で、機械傷のみ処理したときの *PDF1.2* の発現量は野生株と同程度であったことから、AtHERK1 は OS 内成分に特異的に応答する受容体である可能性が示唆された。このことは、*atherk1* 変異株が野生株よりもハスモンヨトウ幼虫に対する抵抗力が有意に低下した結果とも合致する。さらに、*in vitro* システムおよび *in vivo* システムを用いたタンパク質相互作用解析を実施した結果、AtHERK1 は細胞膜上でホモ 2 量体を形成する可能性が示唆された。また、*in vitro* リン酸化アッセイによって、AtHERK1 は 2 量体形成時に相互にリン酸化することで活性化する分子モデルが提唱された。

## 成果発表

### < 学術論文 >

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*, in press

### < 国内学会発表 >

第 60 回日本植物生理学会年会

開催日 : 2019 年 3 月 13-15 日

場所 : 名古屋大学

表題 : ダイズ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 : 上村 卓矢, 八須 匡和, 星野 稜介, 根本 圭一郎, 吉田 彩子, 三浦 成敏, 西山 真, 西山 千春, 堀戸 重臣, 出崎 能丈, 澤崎 達也, 有村 源一郎

理研シンポジウム「植物の代謝制御と化学生物学の新展開」

開催日 : 2018 年 12 月 20 日

場所 : 理研横浜キャンパス

表題 : 植物の食害応答と揮発性化合物を介した生物間相互作用

発表者 : 有村源一郎

第 41 回日本分子生物学会年会

開催日：2018 年 11 月 28-30 日

場所：パシフィコ横浜

表題：イネ科モデル植物ミナトカモジグサにおけるサリチル酸依存型制御因子 BdNPR の機能解明

発表者：星野稜介、上村卓矢、福田達彦、早瀬麟太郎、清水弘平、根本圭一郎、野澤彰、澤崎達也、吉田彩子、西山真、西山千春、安部洋、有村源一郎

<国際学会発表>

The 1<sup>st</sup> International Symposium on the Chemical Communication (ISCC2019)

開催日：2019 年 1 月 9-10 日

場所：一橋大学

表題：Herbivore elicitor receptors in plants

発表者：Uemura T., Hachisu M., Hoshino R., Nemoto K., Yoshida A., Miura S., Nishiyama M., Nishiyama C., Horito S., Desaki Y., Sawasaki T., Arimura G.

Plant Biology 2018

開催日：2018 年 7 月 14-18 日

場所：カナダ、モントリオール

表題：Oligosaccharide elicitor perception system for herbivory defense in plants

発表者：Uemura T., Nemoto K., Ramadan A., Miura S., Hachisu M., Hoshino R., Sawasaki T., 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 AtHERK タンパク質と相互作用を示す RLK タンパク質の選抜に取り組みたい。一方で、既知のシロイヌナズナ MAMP (microbe-associated molecular pattern) 認識系の受容体相互作用シグナル伝達因子（PBL27 等）を標的とした *in vitro* および *in vivo* 相互作用解析を試みる。HERK シグナル伝達系と、害虫応答において重要な役割を担うジャスモン酸シグナル伝達系因子等との相互作用ならびに、植物の相互作用ツールである揮発性化合物の生産システムの理解につなげる（図 1）。

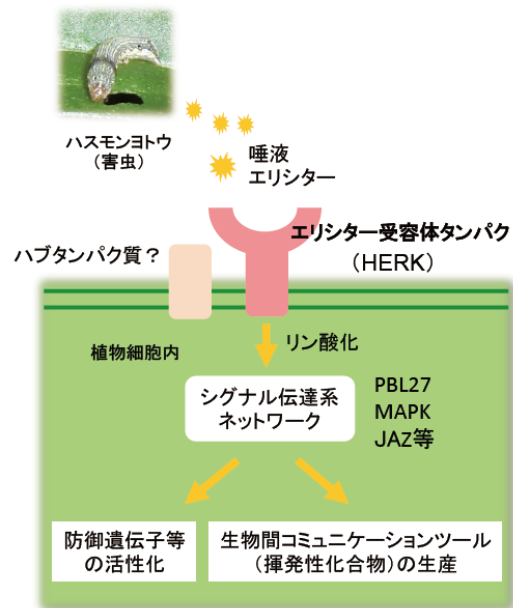


図 1 HERK を介した細胞内シグナル伝達系ネットワークと防御応答システム