

様式3

令和2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3年2月3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

害虫エリシターに誘導される植物の防御初期応答の分子基盤の解明

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	東京理科大学・基礎工学部生物工学科	教授	エリシターの生理機能の解析
研究分担者 澤崎 達也	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	教授	タンパク質合成・分子間相互作用解析
野澤 彰	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	講師	タンパク質合成・分子間相互作用解析

3. 研究成果

別紙のとおり

研究課題名：害虫エリシターに誘導される植物の防御初期応答の分子基盤の解明

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。申請者らは近年、ナミハダニの唾液腺で発現するエリシター「Tet」およびヨトウガ幼虫のオリゴ糖エリシターの応答に関与する受容体キナーゼ（HAK）を同定した。本研究ではこれらの学術基盤から植物の害虫由来エリシター応答機構を紐解く。本共同研究は、生物間相互作用ならびに多様性メカニズムを理解するための重要な基盤研究である。

### 研究内容

以下の2研究項目を実施することで、咀嚼性害虫と吸汁性害虫由来の異なるエリシターに対する特異的受容体の同定および分子機能を理解することで、植物の食害初期応答の分子システムを紐解く。

- (1) AlphaScreen を用いたシロイヌナズナ HAK と相互作用するハスモンヨトウエリシター受容体の同定
- (2) ナミハダニ Tet 受容体

### 研究成果

研究項目1 AlphaScreen を用いたシロイヌナズナ HAK と相互作用するハスモンヨトウエリシター受容体の同定

ハスモンヨトウの唾液由来糖性エリシター (Fr $\alpha$ ) の応答に関わるダイズおよびシロイヌナズナ受容体様タンパク質 (HAK) を同定した (Uemura *et al.*, 2020; Arimura 2021)。

さらに、シロイヌナズナ AtHAK1 は細胞内相互作用因子 PBL27 および calcium-dependent protein kinase related protein kinase 2 (CRK2) と相互作用することで防御遺伝子 *PDF1.2* を活性化することが見出された (図1)。AtHAK1 は Fr $\alpha$  とは *in vitro* では相互作用しないことから、HAK1 には共受容体等が存在することで Fr $\alpha$  もしくは Fr $\alpha$  分解物を認識する可能性が考えられる。そこで本研究では、AlphaScreen を用いた Receptor-like kinase (RLK) ライブラリー (112 タンパク質) と HAK1 の相互作用解析を実施した。その結果、AtHAK1 は LRR-RLK である Phytosulfokin receptor 1 (AtPSKR1 : at2g02220) や Impaired oomycete susceptibility (IOS1 : at1g51800) と強く相互作用することが見出された。

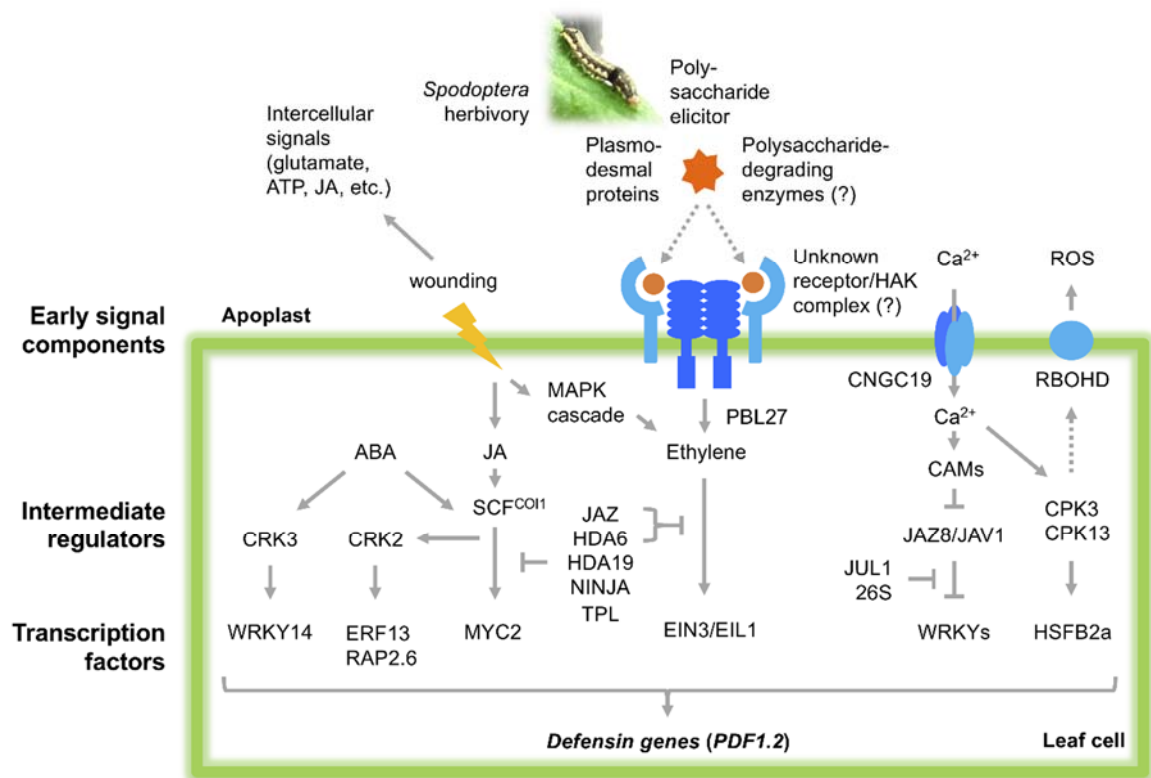


図1 シロイヌナズナのハスモンヨトウ食害認識機構および防御応答のためのシグナル伝達機構

## 研究項目2 ナミハダニ Tet 受容体

様々な農作物種を食害するナミハダニから2種のエリシタータンパク質であるテトラニン (Tet1、Tet2) が同定された(Iida *et al.*, 2019)。テトラニンはインゲンマメやナスの一連の防御応答を誘導することができるが、テトラニンの認識機構については未だ明らかにされていない。そこで本研究では、エリシター活性の高い Tet2 のシロイヌナズナにおける認識機構の解明を試みた。

前項目と同様に、AlphaScreen を用いた Receptor-like kinase (RLK) ライブラリーと Tet2 の相互作用解析を実施したが、有意に Tet2 と相互作用する RLK 分子を同定するに至らなかった。

そこで、シロイヌナズナを受容体様キナーゼ (RLK) 欠損変異株ライブラリー (114 系統) の各個体に Tet2 処理し、葉における防御遺伝子 *FRK1* の発現誘導レベルが低下した株を探索した。その結果、2 系統の変異体が選抜された。これらの変異体では防御応答に関わる転写因子の *ERF1* 遺伝子の発現誘導も低下していることが判明された。一方で、Tet2 以外のエリシターに対する応答異常は認められなかったことから、当該 RLK を Tet2-responsive RLK (TetR1、TetR2) と命名した。アルファスクリーニングによって Tet2 と TetR の相互作用について解析した結果、強い相互作用は認められなかった。また、Tet2 に応答した TetR 変異体では、防御応答シグナル伝達因子であるジャスモン酸

とサリチル酸の蓄積は野生株と同様に生じたことから、TetR は Tet2 応答において既知のものとは異なるシグナル伝達系路に関わることが予測された

## 成果発表

### <学術論文>

Arimura G. (2021) Making sense of the way plants sense herbivores. *Trends in Plant Science*, in press

Uemura T., Hachisu M., Desaki Y., Ito A., Hoshino R., Sano Y., Nozawa A., Mujiono K., Galis I., Yoshida A., Nemoto K., Miura S., Nishiyama M., Nishiyama C., Horito S., Sawasaki T., Arimura G. (2020) Soy and Arabidopsis receptor-like kinases respond to polysaccharide signals from *Spodoptera* species and mediate herbivore resistance. *Communications Biology* 3:224

Takafuji K., Rim H., Kawauchi K., Mujiono K., Shimokawa S., Ando Y., Shiojiri K., Galis I., Arimura G. (2020) Evidence that ERF transcriptional regulators serve as possible key molecules for natural variation in defense against herbivores in tall goldenrod. *Scientific Reports* 10:5352

Rim H., Hattori S., Arimura G. (2020) Mint companion plants enhance the attraction of the generalist predator *Nesidiocoris tenuis* according to its experiences of conspecific mint volatiles. *Scientific Reports* 10:2078

有村源一郎 (2020) 植物の害虫エリシター認識システムの解明と産業利用イノベーション. *バイオサイエンスとインダストリー* 78:490-491

### <国内学会発表>

第 43 回日本分子生物学会年会

開催日：2020 年 12 月 2-4 日（オンライン）

表題：Functional analysis of HAK-mediated signal transduction in Arabidopsis plants in response to herbivory

発表者：Sano Y., Morishima M., Uemura T., Ito A., Hoshino R., Desaki Y., Nozawa A., Sawasaki T., Galis I., Nemoto K., Arimura G.

表題：Characterization of *Tetranychus urticae*-derived elicitors (tetranins) : their molecular function and response system in host plants

発表者：Tanimura K., Yasuno A., Tanaka M., Wakaya K., Takafuji K., Ida J., Abe H., Desaki Y., Arimura G.

#### 今後の課題

AtHAK1 および TetR の相互作用分子を同定する。これらのエリシター認識に関わる分子メカニズムを明らかにすることで、植物の潜在能力を高めることを目的とした害虫防除法の確立を目指す。