

平成 28 年 8 月 1 日

イネいもち病耐性における細胞膜のマイクロドメインの役割を解明

概要

病害による農作物の被害は甚大であり、耐病性の強い植物を作出するためには植物が持つ免疫の仕組みを理解することが必要である。植物の細胞膜は病原体と植物細胞の接点となることから、病害応答の初期反応に重要である。近年の研究から、細胞膜にはマイクロドメインと呼ばれる硬く強固な膜領域が点在し、耐病性タンパク質を含めた多くのタンパク質が集積することが明らかになってきたが、マイクロドメインの植物免疫への関与は未解明であった。本研究ではマイクロドメインを減少させたイネを作出し、それを用いることによって植物のマイクロドメインがイネいもち病耐性に必須であることを見出した。さらに、耐病性に重要な活性酸素種を産生するタンパク質群が病害応答時にマイクロドメインに移行し、活性酸素種を産生することを示した。以上の結果は、細胞膜マイクロドメインが植物免疫に重要である直接的な証拠を示した初めての研究になる。

本成果は、2016年7月27日に、米国科学誌The Plant Cellに公開された。

1 研究の背景

私達人間と同様に植物も様々な病気にかかり、病害による世界の農作物の被害は毎年 10～15% に及ぶ。一方、植物は病気に対抗するために免疫を持っており、その仕組みを明らかにすることは農作物の耐病性の強化に繋がる。植物細胞が病原体の襲来を初めに感知するのは細胞を囲む膜である細胞膜であり、耐病性反応の初期応答に関与するタンパク質が多く存在する。これまで細胞膜は均一な膜であると考えられてきたが、近年の研究から細胞膜上には「マイクロドメイン」と呼ばれる小さく硬い膜領域が点在することが明らかになってきた(図 1A)。マイクロドメインは主にスフィンゴ脂質とステロールから形成され、多数のタンパク質が集積する足場として機能することが知られている。その中には植物の免疫に関わるタンパク質も多く含まれることから、マイクロドメインが植物免疫に重要な働きを示す可能性が示唆されていたが、これまでその直接的な証拠はなかった。

2 研究内容と成果

理工学研究科の長野稔助教・川合真紀教授らは、細胞膜マイクロドメインを形成する脂質であるスフィンゴ脂質に着目し(図 1B)、これを改変することによりマイクロドメインが減少したイネを作出した(図 1C, D)。このイネに対し、日本の稲作に最も被害を与えるいもち病菌を接種したところ、マイクロドメイン減少イネでは野生型イネに比べて病班が拡大したことから、マイクロドメインがイネいもち病菌耐性に必須であることが明らかになった(図 2A)。さらにマイクロドメインタンパク質の解析から、植物の耐病性に重要な活性酸素種を産生するタンパク質群が病害抵抗反応時にマイクロドメインに一時的に移行し(図 2B)、活性酸素種の産生を行うことも見出した(図 2C)。以上の結果から、細胞膜マイクロドメインは活性酸素種の産生を介してイネいもち病菌耐性を制御することが明らかになった。

本研究は、奈良先端科学技術大学院大学、慶応大学、立命館大学、及び Shanghai Center for Plant Stress Biology との共同研究の成果である。

3 今後の期待

細胞膜マイクロドメインの増強により耐病性タンパク質の増加と活性化が見込まれるため、植物へのより強い耐病性の付与が期待される。また、マイクロドメイン上には免疫以外にも環境ストレス耐性に関与するタンパク質が多く存在するため、他のストレスに強い植物の作出にも貢献できると考えている。

4 原論文情報

The Plant Cell Online, doi: 10.1105/tpc.16.00201

5 参考図又は写真等

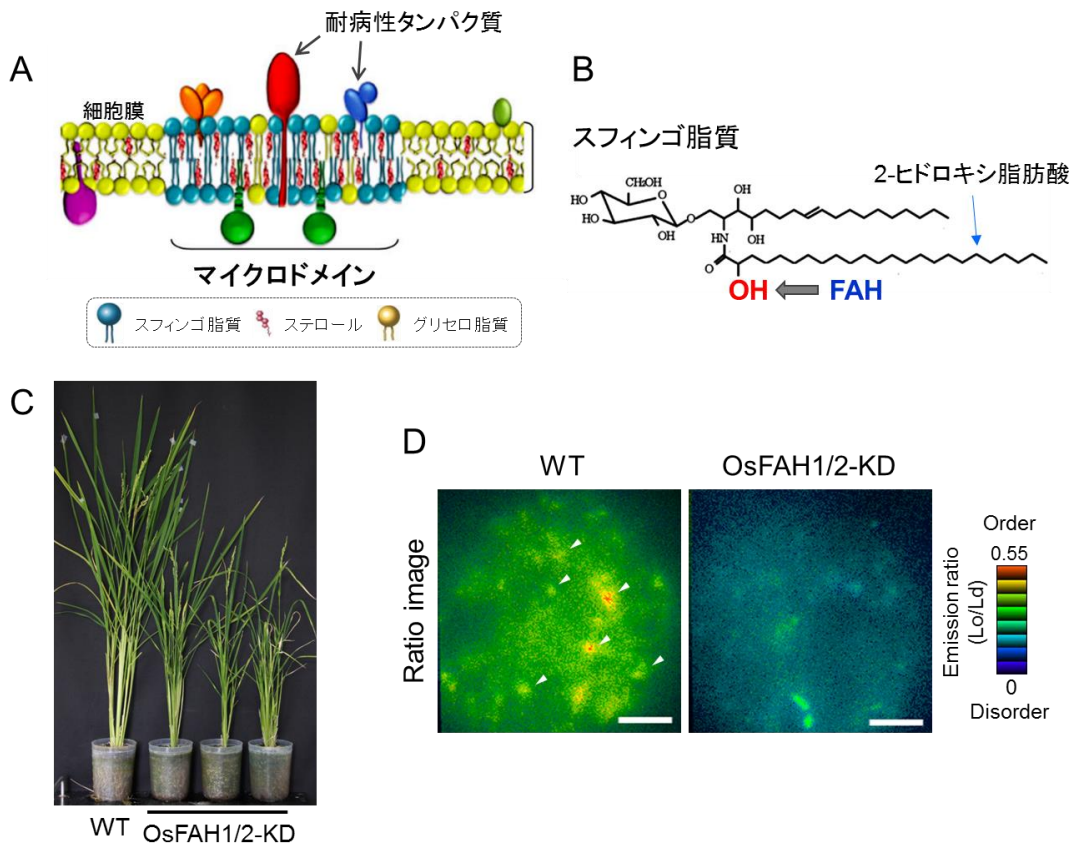


図 1. スフィンゴ脂質の改変によるマイクロドメイン減少イネの作出

(A) 細胞膜マイクロドメインのモデル。細胞膜にはスフィンゴ脂質とステロールから形成されるマイクロドメインが点在し、耐病性タンパク質を含めた多くのタンパク質が存在する。Mongrand et al., Trends Plant Sci., 2010 を改変。

(B) スフィンゴ脂質の構造例。脂肪酸 2-ヒドロキシラーゼ (FAH) は脂肪酸をヒドロキシル化し、2-ヒドロキシ脂肪酸を合成する。2-ヒドロキシ脂肪酸同士の結合が強固なマイクロドメイン形成の鍵となる。

(C) FAH 抑制イネの作出。イネには FAH が 2 遺伝子 (*OsFAH1* と *OsFAH2*) 存在し、その両方を発現抑制させ 2-ヒドロキシ脂肪酸を減少させたイネ (*OsFAH1/2-KD*、キンマゼ) を作出した。

(D) マイクロドメインの可視化。膜の流動性を可視化する試薬と全反射照明蛍光顕微鏡を組み合わせ、細胞膜上のマイクロドメインを可視化した。赤や黄色のドット (矢尻) がマイクロドメインである。WT ではマイクロドメインが多数観察されるが、*OsFAH1/2-KD* では見られない。スケールバーは 3 μm を示す。

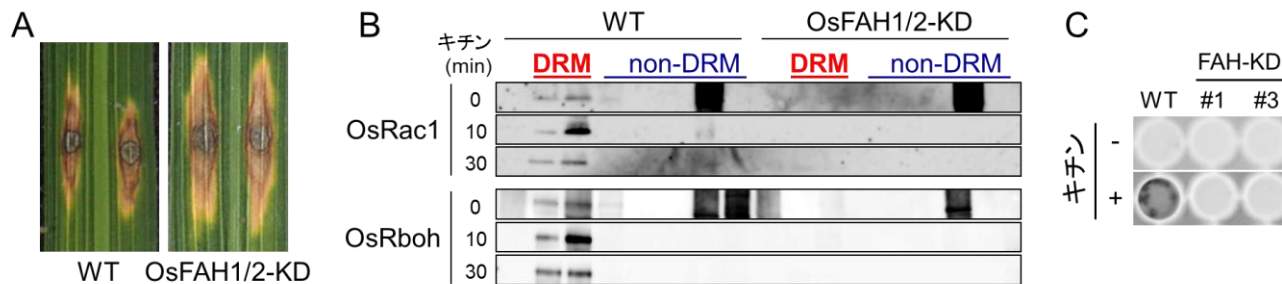


図 2. マイクロドメインと病害応答の関係

(A) いもち病菌感染実験。WT と OsFAH1/2-KD に対してイネいもち病菌 (race 007.0) を接種したところ、WT と比べて OsFAH1/2-KD では病班が拡大した。(B) 耐病性細胞膜タンパク質のマイクドメインへの移行。イネ培養細胞から細胞膜を抽出し、マイクドメイン含有画分 (DRM) と非含有画分 (non-DRM) に分画した。WT では活性酸素種を産生する OsRboh タンパク質とその活性化を担う OsRac1 タンパク質が、病原菌成分キチン処理後 10 分でマイクドメインに集積した。一方、OsFAH-KD では両タンパク質はマイクドメイン上には見られなかった。(C) 病害処理時の活性酸素種の検出。キチン処理後、WT では活性酸素種の産生 (黒) が見られるが、OsFAH1/2-KD では全く検出されなかった。

6 用語解説

マイクドメイン: グリセロ脂質が大部分を占める細胞膜の中に点在するスフィンゴ脂質とステロールから形成される膜ドメイン。多くの膜タンパク質が集積し、細胞内反応活性化の足場となっている。

スフィンゴ脂質: 真核生物に存在するセラミドを基本骨格とした脂質。植物のスフィンゴ脂質の多くは 2 番目の炭素がヒドロキシル化された 2-ヒドロキシ脂肪酸を持つ。このヒドロキシル基が水素結合によりスフィンゴ脂質同士の結合を強め、マイクドメインの形成に寄与している。スフィンゴ脂質の名前の由来は「謎」を意味するスフィンクス。

活性酸素種: 酸素分子が活性化状態になった物質の総称。植物は病害応答時に活性酸素種を作り出すことで、病原体に対する直接的な攻撃、細胞壁の強化、シグナル伝達を行う。

7 発表者

理工学研究科・長野稔、川合真紀

※ 問い合わせ先

埼玉大学・大学院理工学研究科

担当教員 助教・長野稔

TEL 048-858-3582

e-mail mnagano@mail.saitama-u.ac.jp

埼玉大学・大学院理工学研究科

担当教員 教授・川合真紀

TEL 048-858-9269

e-mail mkawai@mail.saitama-u.ac.jp