

卵菌綱植物病原菌の感染機構に関する研究

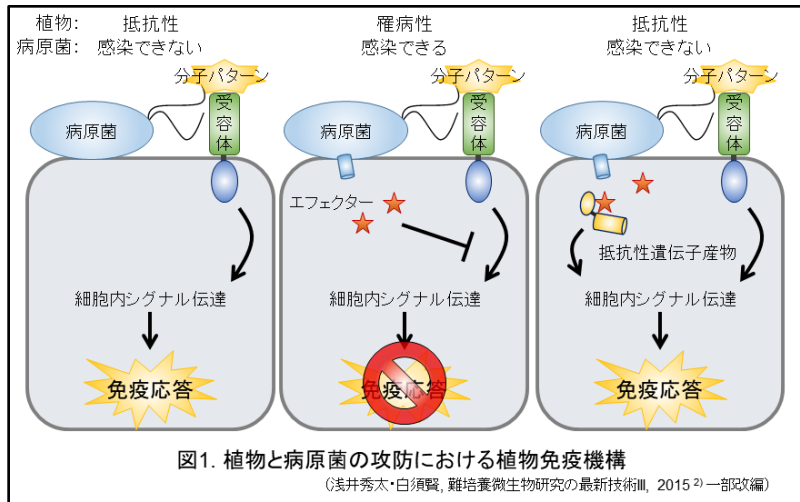
浅井 秀太 (理化学研究所)

shuta.asai@riken.jp

植物と病原菌は、共進化の過程で、それぞれ強固な生体防御システム、および複雑な感染機構を発展させてきた。これまでに、卵菌綱植物病原菌と宿主植物の相互作用について研究を行い、宿主側の防御機構とそれに対する病原菌側の抑制および回避戦略に関する新たな知見を獲得してきた。そこで、本稿では、植物と病原菌の存続をかけた攻防による共進化の一端について紹介する。

はじめに

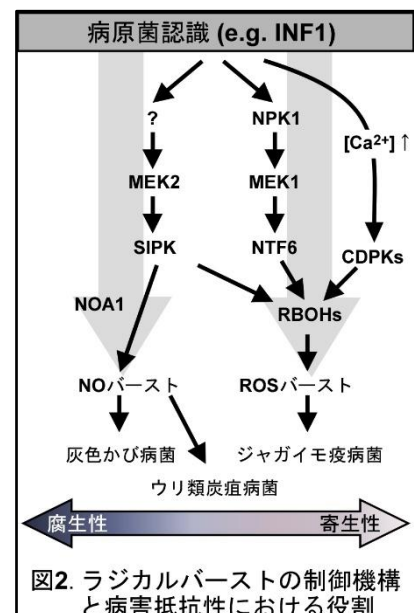
植物は、病原菌が共通に持つ分子パターンを感知し、基礎抵抗性を誘導する。一方、植物病原菌はエフェクターと呼ばれるタンパク質を植物細胞内に注入し、基礎抵抗性を抑制することで感染を成立させている。それに対して、抵抗性を示す



植物は、抵抗性遺伝子産物を用いてエフェクターを認識し、防御応答を誘導する (図 1) ^{2,3)}。つまり、病原菌認識後の、植物の抵抗性誘導機構を研究することに加えて、エフェクターの機能および標的を明らかにすることにより、病害抵抗性に関わる重要な因子の同定が期待される。また、エフェクターは抵抗性遺伝子による認識を避けるように進化してきたことが考えられ、その認識回避機構を明らかにできれば、植物と病原菌の攻防における感染の決定機構が明らかとなり、将来の病害防除法開発の基盤となることが期待される。

ラジカルバーストの制御機構と植物免疫における役割

感染できない病原菌が感染を試みると、その極初期に活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) や一酸化窒素 (nitric oxide: NO) が生産され、続いて動的な防御応答が誘導される。これらラジカル分子の生産は、急激な応答反応であることから、それぞれ“ROS バースト”、“NO バースト”と呼ばれているが、その制御機構は解っていなかった。卵菌であるジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) 由来の INF1 エリシターとベンサミアナタバコ植物を主な実験系として、ROS や NO の生産を統御する仕組み、および植物免疫における役割を明らかにしてきた (図 2) ^{4,5,6,7,8)}。ベンサミアナタバコ植物では、MAPK カスケードである MEK2-SIPK、および NPK1-MEK1-NTF6 カスケード



ドが NADPH オキシダーゼ NbrBOHB を介した ROS バーストを制御し、MEK2-SIPK カスケードが NO 合成関連因子 NbNOA1 を介した NO バーストを制御している⁴⁾。また、ROS バーストと NO バーストが、感染戦略の異なる病原菌に対してそれぞれ抵抗性を発揮していることを明らかにした^{4,5)}。

べと病菌の抵抗性遺伝子による認識回避機構

卵菌である *Hyaloperonospora arabidopsidis* (*Hpa*) は、シロイヌナズナにべと病を引き起こす植物病原菌である。*Hpa* の分離株 Emoy2 のゲノムについてはすでに明らかとされており、約 400 個の候補エフェクターが同定されている^{9,10)}。これまでに、シロイヌナズナ-*Hpa* 間の相互作用は世界中で精力的に研究されており、シロイヌナズナの異なる遺伝子型と *Hpa* の異なる分離株間の親和性・非親和性の関係が明らかにされている。また、シロイヌナズナにおいては主にマップベースクローニングにより抵抗性遺伝子またはその遺伝子座 (recognition of *Peronospora parasitica*: *RPP*) が約 30 程度同定されている。一方、抵抗性遺伝子産物により認識される *Hpa* の Avr (avirulence) エフェクター (*Arabidopsis thaliana* recognized: ATR) は 4 つ (ATR1, ATR5, ATR13, ATR39) のみの同定に留まっていた^{11,12,13,14)}。

まず *Hpa* 接種時のエフェクターを含めた *Hpa* 側の遺伝子発現変動、および宿主植物の応答を調べる目的で、*Hpa* の非親和性株 Emoy2 および親和性株 Waco9 を接種したシロイヌナズナ (Col-0) において、デュアル RNA シークエンス法によるトランスクリプトーム解析を行った⁹⁾。加えて、ゲノム解析により、*Hpa* Waco9 分離株は、植物に認識されるエフェクター (*ATR1*) をゲノムから欠失させることで、*ATR1* を認識する抵抗性遺伝子 (*RPP1*) を持つシロイヌナズナへの感染を成立させている、つまり抵抗性遺伝子 *RPP1* による認識を回避していることがわかった⁹⁾。

シロイヌナズナの Col-0 遺伝子型は、同定されている抵抗性遺伝子 *RPP4* により *Hpa* の Emoy2 および Emwal1 分離株を認識し、抵抗性を示すことが知られている¹⁵⁾。しかし、*RPP4* により認識されるエフェクターは同定されていなかった。Col-0 に対する親和性株 Waco9 は *RPP4* による認識を逃れている事から、*RPP4* により認識されるエフェクターは、①Waco9 においてゲノムから欠失している、または②発現していない (Emoy2、Emwal1 では発現している)、もしくは③Emoy2、Emwal1 のアレルと比べ遺伝子多型である (Emoy2、Emwal1 アレルは同一もしくは非常に似ている) ことが考えられた。そこで、比較ゲノム解析 (①、③の検証) および比較トランスクリプトーム解析 (②の検証) を行い、シロイヌナズナの抵抗性遺伝子 *RPP4* により認識される *Hpa* エフェクター *AvrRPP4* を同定した¹⁶⁾。*AvrRPP4* は、*Hpa* Waco9 分離株において、感染時に発現していないエフェクター (上記②に該当) として、候補にあがっていた。つまり、Waco9 は *AvrRPP4* の発現を抑制することにより *RPP4* による認識を回避していることがわかった (図 3B)。続いて、*Hpa* の

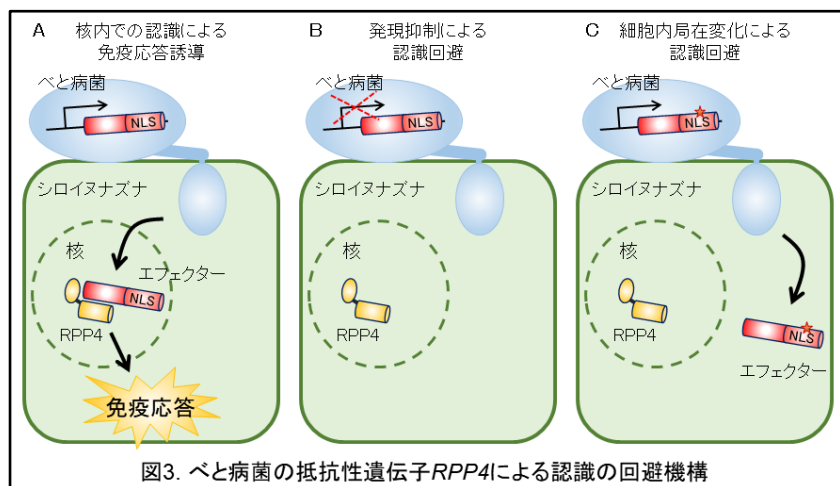


図3. べと病菌の抵抗性遺伝子 *RPP4* による認識の回避機構

様々な分離株由来の *AvrRPP4* アレルについて解析を行ったところ、*AvrRPP4* は、機能的な核移行シグナルペプチド (nuclear localization signal: NLS) 配列を持っており、宿主植物細胞の核 (おそらく核小体) 内で、*RPP4* に認識されることがわかった (図 3A)。さらには、*Hpa Hind2* 分離株由来の *AvrRPP4* アレルでは、NLS 配列上に 1 アミノ酸置換が見られ、宿主植物細胞内での局在が変化しており、それにより *RPP4* による認識を回避していることがわかった (図 3C)。以上のように、べと病菌は、*AvrRPP4* エフェクターの発現を抑制 (図 3B)、または宿主細胞内での局在を変化させる (図 3C) 2 種類の機構により *RPP4* による認識を回避していることを明らかにした¹⁶⁾。

べと病菌エフェクターの植物免疫抑制機構

トランスクリプトーム解析の結果、シロイヌナズナ (Col-0) では、サリチル酸の応答遺伝子が、*Hpa* の非親和性株 Emoy2、および親和性株 Waco9 いずれの接種においても発現誘導されていることがわかった⁹⁾。サリチル酸は、*Hpa* に対する抵抗性において重要な役割を果たすことから、親和性株 Waco9 接種後にサリチル酸応答遺伝子の発現上昇が見られたことに疑問を持った。そこで、サリチル酸応答遺伝子である *PR1* 遺伝子の発現を組織化学的に評価したところ、*Hpa* が感染している細胞においては *PR1* 遺伝子の発現は見られず、感染していない周りの細胞において強く発現していること、つまり *Hpa* はサリチル酸シグナル伝達経路を抑制していることがわかった^{9, 17)}。また、*Hpa* エフェクター (HaRxL44、HaRxL62、HaRxL106) がその抑制に関与していることを明らかにし、HaRxL44 と HaRxL106 については、宿主側の標的因子を同定した^{9, 17, 18, 19)}。ジャスモン酸はサリチル酸と拮抗的に働くことが知られているが、HaRxL44 は、宿主の転写制御に関わる Mediator 複合体の subunit である Med19a と相互作用し、Med19a の分解を促進することでジャスモン酸経路を活性化し、それに伴いサリチル酸経路を抑制する¹⁷⁾。HaRxL106 は、宿主核内で転写制御因子である RADICAL-INDUCED CELL DEATH1 (RCD1) を標的とすることで、サリチル酸経路を抑制し、感染を優位に進めていることを明らかにした¹⁹⁾。本研究により、Med19a がジャスモン酸応答を制御すること、RCD1 がサリチル酸応答に関与することを初めて明らかにした。つまり、病原菌エフェクターの解析により、植物の免疫機構を明らかにできることを併せて示した。

おわりに

以上のように、病原菌認識後の植物免疫誘導機構、ならびに病原菌エフェクターの宿主標的因子、および抵抗性遺伝子による認識回避機構について明らかにしてきた。これらの成果に基づく病害防除法が開発され、現場で応用されることを期待する。

謝辞

本賞の受賞にあたっては、日本植物病理学会から推薦を賜りました。有江力会長をはじめ、関係者の皆様に厚く御礼を申し上げます。本講演で紹介した研究は、名古屋大学大学院生命農学研究科植物免疫学研究室、英国センズベリー研究所、および理化学研究所環境資源科学研究センター植物免疫研究グループで行われたものです。名古屋大学の吉岡博文准教授、センズベリー研究所の Jonathan D.G. Jones 教授、ならびに理化学研究所の白須賢教授をはじめとして、多くの方々のご指導・ご協力を賜りました。心より感謝申し上げます。

引用文献

1. Asai S. and Shirasu K.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 28:1-8 (2015).
2. 浅井秀太・白須賢: 難培養微生物研究の最新技術 III -微生物の生き様に迫り課題解決へ-、シーエムシー出版刊、125-134 (2015).
3. Jones J.D. and Dangl J.L.: *Nature* 444:323-329 (2006).
4. Asai S., Ohta, K. and Yoshioka H.: *Plant Cell* 20:1390-1406 (2008).
5. Asai S. and Yoshioka H.: *Mol. Plant. Microbe Interact.* 22:619-629 (2009).
6. Asai S., Mase K. and Yoshioka H.: *Plant J.* 62:911-924 (2010).
7. Asai S., Yoshioka M., Nomura H., Tone C., Nakajima K., Nakane E., Doke N. and Yoshioka H.: *J. Gen. Plant Pathol.* 77:152-162 (2011).
8. Asai S., Ichikawa T., Nomura H., Kobayashi M., Kamiyoshihara Y., Mori H., Kadota Y., Zipfel C., Jones J.D.G. and Yoshioka H.: *J. Biol. Chem.* 288:14332-14340 (2013).
9. Asai S., Rallapalli G., Piquerez S.J., Caillaud M.C., Furzer O.J., Ishaque N., Wirthmueller L., Fabro G., Shirasu K. and Jones J.D.: *PLoS Pathog.* 10:e1004443 (2014).
10. Baxter L., Tripathy S., Ishaque N., Boot N., Cabral A., Kemen E., Thines M., Ah-Fong A., Anderson R., Badejoko W., Bittner-Eddy P., Boore J.L., Chibucos M.C., Coates M., Dehal P., Delehaunty K., Dong S., Downton P., Dumas B., Fabro G., Fronick C., Fuerstenberg S.I., Fulton L., Gaulin E., Govers F., Hughes L., Humphray S., Jiang R.H., Judelson H., Kamoun S., Kyung K., Meijer H., Minx P., Morris P., Nelson J., Phuntumart V., Qutob D., Rehmany A., Rougon-Cardoso A., Ryden P., Torto-Alalibo T., Studholme D., Wang Y., Win J., Wood J., Clifton S.W., Rogers J., Van den Ackerveken G., Jones J.D., McDowell J.M., Beynon J. and Tyler B.M.: *Science* 330:1549-51 (2010).
11. Allen R.L., Bittner-Eddy P.D., Grenvitte-Briggs L.J., Meitz J.C., Rehmany A.P., Rose L.E. and Beynon J.L.: *Science* 306:1957-1960 (2004).
12. Bailey K., Cevik V., Holton N., Byrne-Richardson J., Sohn K.H., Coates M., Woods-Tor A., Aksoy H.M., Hughes L., Baxter L., Jones J.D., Beynon J., Holub E.B. and Tor M.: *Mol. Plant Microbe Interact.* 24:827-38 (2011).
13. Goritschnig S., Krasileva K.V., Dahlbeck D. and Staskawicz B.J.: *PLoS Genet.* 8:e1002502 (2012).
14. Rehmany A.P., Gordon A., Rose L.E., Allen R.L., Armstrong M.R., Whisson S.C., Kamoun S., Tyler B.M., Birch P.R. and Beynon J.L.: *Plant Cell* 17:1839-50 (2005).
15. van der Biezen E.A., Freddie C.T., Kahn K., Parker J.E. and Jones J.D.: *Plant J.* 29:439-51 (2002).
16. Asai S., Furzer O.J., Cevik V., Kim D.S., Ishaque N., Goritschnig S., Staskawicz B.J., Shirasu K. and Jones J.D.: *Nat. Commun.* 9:5192 (2018).
17. Caillaud M.C., Asai S., Rallapalli G., Piquerez S.J.M., Fabro G. and Jones J.D.: *PLoS Biol.* 11:e1001732 (2013).
18. Wirthmueller L., Roth C., Fabro G., Caillaud M.C., Rallapalli G., Asai S., Sklenar J., Jones A.M., Wiermer M., Jones J.D. and Banfield M.J.: *Plant J.* 81:40-52 (2015).
19. Wirthmueller L., Asai S., Rallapalli G., Sklenar J., Fabro G., Kim D.S., Lintermann R., Jaspers P., Wrzaczek M., Kangasjarvi J., MacLean D., Menke F.L.H., Banfield M.J. and Jones J.D.: *New Phytol.* 220:232-248 (2018).