

PRESS RELEASE



MAX PLANCK INSTITUTE
FOR PLANT BREEDING RESEARCH



報道機関 関係者各位

令和5年9月1日

LysM 型受容体を介した自然免疫システムが 陸上植物間で広く保存されていることを解明

～植物免疫システムの起源と進化の理解に貢献～

研究成果のポイント

- ・ コケ植物ゼニゴケにおける LysM 型の膜受容体を介した免疫システムを発見
- ・ 陸上植物における膜受容体を介した免疫システムの起源、保存性および多様性を示唆
- ・ ゼニゴケにおいて青色光受容体が免疫システムの不活性化に関わることを発見

概要

植物は自然界において膨大な数と種類の病原体たり得る微生物に曝されていますが、免疫受容体を介した自然免疫システムの活性化により頑健性を示すと考えられています。これまでモデル被子植物であるシロイヌナズナを用いた研究を中心として、微生物に広く保存されている構成成分 (MAMP^{*1}) を膜局在型パターン認識受容体 (PRR^{*2}) が認識して活性化するパターン誘導性免疫システム (PTI^{*3}) の理解が進められてきました。しかしながら、被子植物を含む維管束植物とは独立して進化の過程を経てきたコケ植物^{*4}における PTI の保存性および病害抵抗性への寄与は殆ど知られていませんでした。東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科の四井いずみ助教 (元 理化学研究所環境資源科学研究センター植物プロテオミクス研究ユニット特別研究員) とマックスプランク植物育種学研究所の中神弘史グループリーダー (元 理化学研究所環境資源科学研究センター植物プロテオミクス研究ユニットユニットリーダー) らを中心とする国際共同研究グループは、モデル苔類であるゼニゴケ^{*5}においてカビおよび細菌の細胞壁成分の認識に関わる LysM 型受容体^{*6}を見出し、ゼニゴケにおいて PTI が病原性微生物への

抵抗性に寄与していることを明らかにしました。これは LysM 型受容体を介した自然免疫システムが、維管束植物とコケ植物の分岐以前つまりは陸上植物の共通祖先の段階において既に確立されていたことを示唆します。本研究グループは更にリン酸化プロテオミクス^{*7}技術を駆使することで、ゼニゴケで LysM 型受容体の下流において PTI に関わるタンパク質群を網羅的に見出しました。これらの中には青色光受容体フォトトロピン^{*8}を含む PTI への寄与が報告されていない因子が多数ありました。そこでゼニゴケの変異体を用いた解析を行い、フォトトロピンが MAMP により転写誘導された遺伝子群の定常状態への回復に関わることを見出しました。今回の研究報告により陸上植物における自然免疫システムの保存性やフォトトロピンによる PTI 制御機構の存在が示されました。本研究成果は、米国科学雑誌「Current Biology」(電子版)に掲載されます。

本研究は、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費助成事業若手研究 (A) 「基礎的抵抗性を普遍的に制御するシグナル伝達システムの解明 (研究代表者: 中神弘史)」、新学術領域研究 (研究領域提案型) 「病原体の侵入を細胞壁が感知する機構および意義 (研究代表者: 中神弘史)」の助成を受けたものです。

研究背景

植物は自然界において膨大な数と種類の病原体たり得る微生物に曝されていますが、細胞膜上の免疫受容体を介した自然免疫システムの活性化により頑健性を示すと考えられています。これまでモデル被子植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*: 学名下線の At でシロイヌナズナの遺伝子を示す) を用いた研究を中心として、微生物に広く保存されている構成成分 (MAMP) を膜局在型パターン認識受容体 (PRR) が認識して活性化するパターン誘導性免疫システム (PTI) の理解が進んでいます。代表的な PRR として細菌の鞭毛に由来する flg22 を認識する AtFLS2 や細菌の翻訳伸長因子に由来する elf18 を認識する AtEFR が知られており、これらは細胞外にロイシンリッチリピート (LRR) を持つ LRR 型受容体です。この他に、カビの細胞壁成分キチンを認識する AtLYK5 や AtCERK1、細菌の細胞壁成分ペプチドグリカン認識する AtLYM1/3 は、細胞外にリシンモチーフ (LysM) を持つ LysM 型受容体として知られています。近年、被子植物以外にもシダ植物、コケ植物、車軸藻植物など進化系統の異なる様々な植物種のゲノム解読が推し進められており、植物種間での遺伝子の比較解析による PTI の起源や進化を理解するためのツールが整いつつあります。併せて、コケ植物に属するヒメツリガネゴケ、ツノゴケやゼニゴケのモデル化に伴い遺伝子機能を明らかにすることが可能になってきました。その中、被子植物を含む維管束植物とは独立して進化の過程を経てきたコケ植物における PTI の保存性および病害抵抗性への寄与は殆ど知られていませんでした。

研究成果

本研究グループは、モデル苔類であるゼニゴケ(*Marchantia polymorpha*: 学名下線の Mp でゼニゴケの遺伝子を示す)は、キチンおよびペプチドグリカンを与えると免疫応答を誘導するが、flg22 や elf18 等には反応しないことを見出しました。そこで LysM 型受容体様遺伝子の変異体を作り出すことで、キチンおよびペプチドグリカンへの応答に関わる LysM 型受容体を見出し、ゼニゴケにおいて PTI が病原性微生物への抵抗性に寄与していることを明らかにしました。

ゼニゴケを含む進化系統の異なる様々な植物種由来の LysM 型受容体様タンパク質の分子系統解析^{*9}を行ったところ、LYK(細胞内に活性型キナーゼドメインを持つタイプで、キチン受容体である AtCERK1 を含むグループを LYKa タイプ、もう1つのグループを LYKb タイプとした)、LYR(活性能を欠失したと考えられるキナーゼドメインを持つタイプで、キチン受容体である AtLYK5 を含む)、LYP(細胞内ドメインを持たずに細胞膜にアンカーされるタイプで、ペプチドグリカン受容体である AtLYM1/3 を含む)に大別できました(図1)。また、車軸藻植物由来の LysM 型受容体様タンパク質は独立したグループを形成することを見出しました(図1)。ゼニゴケは LYKa, LYKb, LYR, LYP グループに属する LysM 型受容体様タンパク質をそれぞれ1つずつ有することが分かりました(図1)。このことは、ゼニゴケにおける LysM 型受容体様タンパク質が制御するシステムの遺伝的な冗長性の低さのみならず植物は陸上化の早い段階で4種類の LysM 型受容体様タンパク質をコードする遺伝子を獲得していたことを示唆します。

ゼニゴケでこれら LysM 型受容体様タンパク質をコードする遺伝子の変異体を作成して解析を行ったところ、LYKa タイプの MpLYK1 と LYR タイプの MpLYR が、キチンそしてペプチドグリカンによる免疫応答の誘導に必要であること(図2)、そして MpLYK1 は病原性細菌および病原性糸状菌に対する抵抗性に関わっていることが分かりました。一方、LYP タイプの MpLYP のキチンおよびペプチドグリカンへの応答の関与は観察されませんでした(図2)。これらのことは、LysM 型受容体を介した PTI は維管束植物とコケ植物が分岐する前に既に確立されていたことを示唆します。

PRR の多くはタンパク質リン酸化酵素であり、リン酸化を介して下流にシグナルを伝達します。本研究グループはリン酸化プロテオミクス技術を駆使することで、ゼニゴケで LysM 型受容体の下流において PTI に関わるタンパク質群を網羅的に探索しました。キチン処理によりリン酸化状態が変化するタンパク質としてキチン受容体もしくは共受容体として機能し得る MpLYR と MpLYK1、シロイヌナズナにおいて PTI を制御する受容体様細胞質キナーゼ(RLCK)や MAPK キナーゼキナーゼ(MAPKKK)、MAPK キナーゼ(MAPKK)、MAP キナーゼ(MAPK)などのゼニゴケにおけるホモログ^{*10}を見出しました。さらに、青色光受容体フォトロピンを含む PTI への寄与が報告されていない因子が多数含まれていました。そこでゼニゴケの変異体を用いた解析を行い、フォトロピン(MpPHOT)が MAMP により転写誘導された遺伝子群の発現を抑制することにより定常状態への回復に関わることを見出しました(図3)。今回の研究報告により陸上植物における自然免疫システムの保存性やフォトロピンによる

PTI 制御機構の存在が示されました。

今後の展望

維管束植物とコケ植物の比較解析をすることにより、維管束植物とコケ植物が分岐する前の共通祖先植物が有していた特徴を推定することが可能となります。本研究において、コケ植物ゼニゴケで PTI を解析するツールを確立することが出来ました。この成果は、植物の免疫システムの起源、保存性および多様性の理解に役立ち、多くの植物種に使える普遍性の高い病害抵抗性技術の開発に貢献できると期待されます。

掲載論文情報

タイトル : LysM-mediated signaling in *Marchantia polymorpha* highlights the conservation of pattern-triggered immunity in land plants

掲載誌 : Current Biology

doi : 10.1016/j.cub.2023.07.068

著者 : Izumi Yotsui, Hidenori Matsui, Shingo Miyauchi, Hidekazu Iwakawa, Katharina Melkonian, Titus Schlüter, Santiago Michavila, Takehiko Kanazawa, Yuko Nomura, Sara Christina Stolze, Hyung-Woo Jeon, Yijia Yan, Anne Harzen, Shigeo S. Sugano, Makoto Shirakawa, Ryuichi Nishihama, Yasunori Ichihashi, Selena Gimenez Ibanez, Ken Shirasu, Takashi Ueda, Takayuki Kohchi, Hirofumi Nakagami

URL : <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.07.068>

参考図

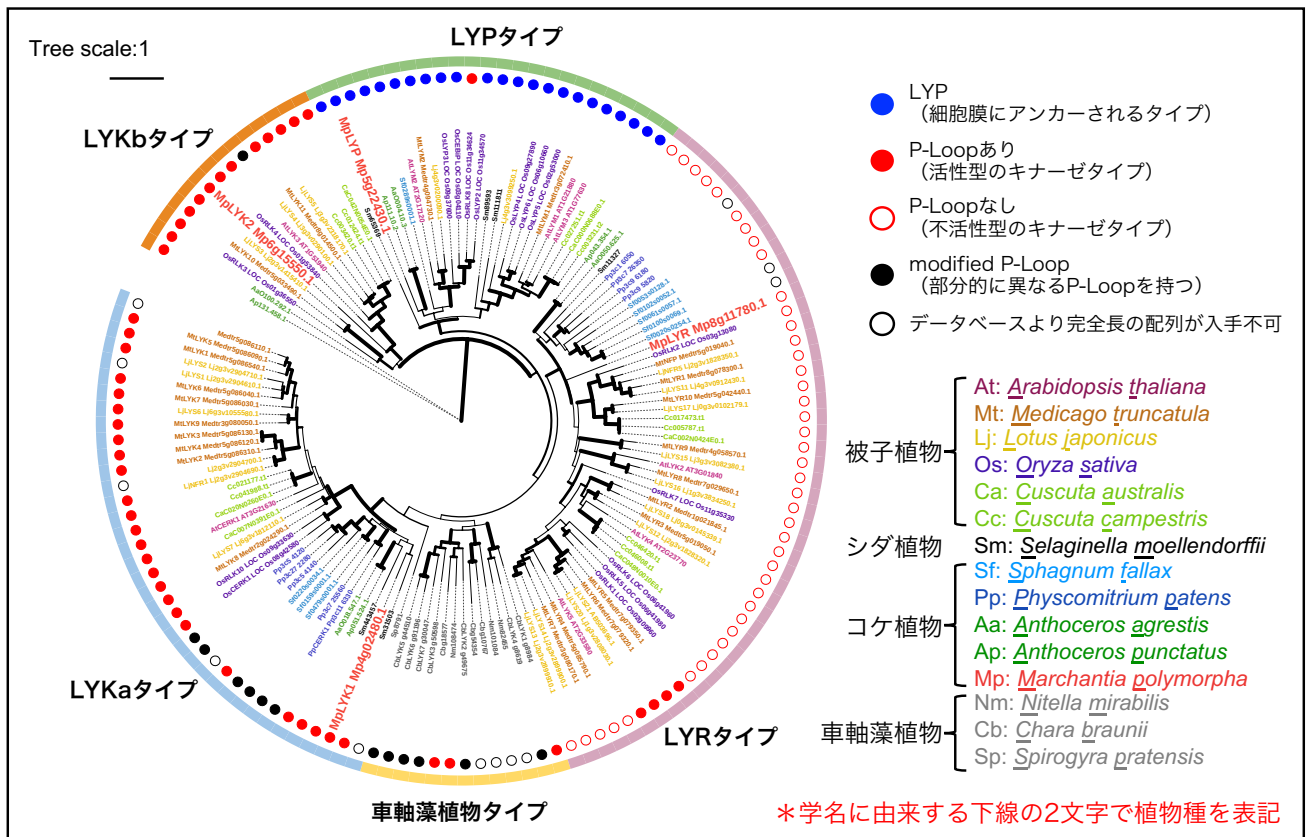


図1. 植物種における LysM 型受容体様タンパク質の系統樹

ゼニゴケは LYKa, LYKb, LYR, LYP の4種類の LysM 型受容体様タンパク質をそれぞれ1つずつ有し、車軸藻植物由来の LysM 型受容体様タンパク質は独立したグループを形成する。

LYKa, LYKb: 細胞内に活性型キナーゼドメインが存在するタイプ LYR: 細胞内に活性能を欠失したキナーゼドメインが存在するタイプ LYP: 細胞内ドメインがなく、細胞膜にアンカーされるタイプ

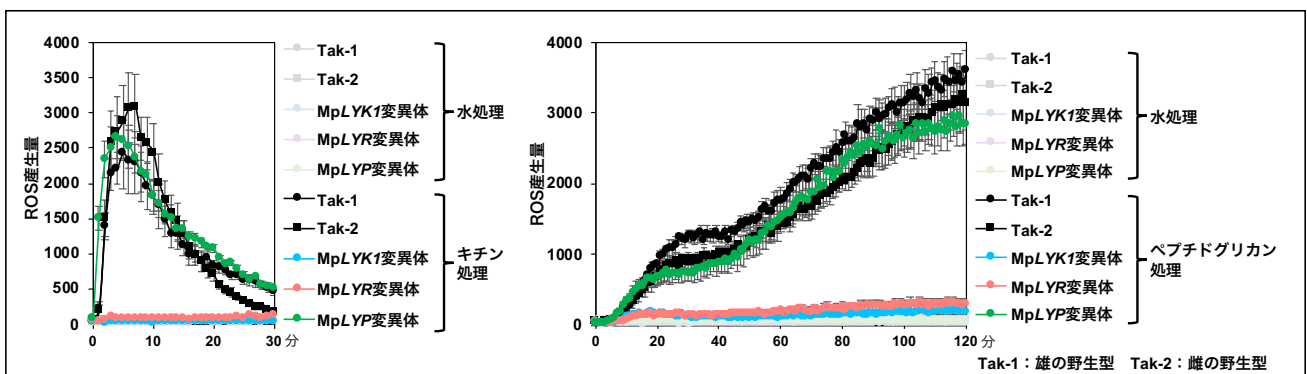


図2. ゼニゴケにおけるキチンもしくはペプチドグリカン処理による活性酸素種バースト

活性酸素種バーストは PTI の指標であり、PRR が MAMP を認識した後に細胞膜局在の NADPH オキシダーゼが活性化されることで一過的に活性酸素種が生成される応答である。ゼニゴケ葉状体上に形成さ

れる杯状体の中には無性芽と呼ばれるクローン体が作られる。無性芽を液体培養した組織を MAMP 処理することで活性酸素種バーストが検出できる。LYKa タイプの MpLYK1 と LYR タイプの MpLYR が、キチンそしてペプチドグリカンによる免疫応答の誘導に必要であるが、LYP タイプの MpLYP のキチンおよびペプチドグリカンへの応答の関与は観察されない。

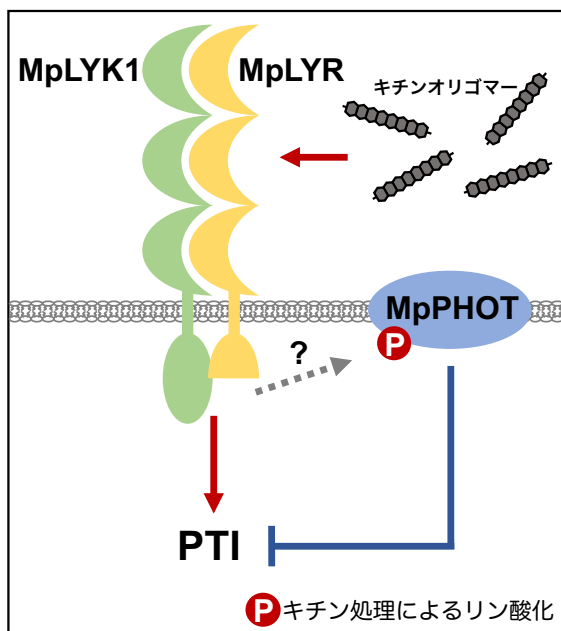


図3. ゼニゴケにおけるフォトロピンを介した PTI 制御システム

用語解説

*¹ MAMP (Microbe-associated molecular pattern)

微生物が持つ基本的な構造で、生存に重要なため変異が起こりにくい。細菌の鞭毛に由来する flg22、細菌の翻訳伸長因子に由来する elf18、細菌の細胞壁成分ペプチドグリカン、細菌の細胞膜成分リポ多糖、カビの細胞壁成分キチンなどが知られている。

*² パターン認識受容体 (Pattern-recognition receptor: PRR)

MAMP を認識することにより活性化する細胞膜上に存在する受容体のこと。

*³ パターン誘導性免疫 (Pattern-triggered immunity: PTI)

活性化した PRR によって誘導される防御応答をパターン誘導性免疫と呼び、Ca²⁺バースト、活性酸素種バースト、受容体様細胞質キナーゼ (RLCK)・MAP キナーゼ (MAPK)・Ca²⁺依存性プロテインキナーゼ (CDPK) の活性化、カロース沈着、遺伝子発現リプログラミングなどが誘導される。

*⁴ コケ植物

維管束植物と独立して進化の過程を経た姉妹系統にある植物種。蘚類、苔類、ツノゴケ類から構成されている。

*⁵ ゼニゴケ

苔類に属するコケ植物である。進化過程でゲノム重複が起こらず遺伝的冗長性が低い特徴がある。2017年にゲノム情報が公開されたことにより配列情報の入手が可能である。遺伝子導入方法も確立されており、相同組み換えによる遺伝子破壊株や CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集株の作出が可能であり、遺伝学的解析をする上で有効なモデルコケ植物である。

*⁶ LysM 型受容体

細胞膜に存在する免疫受容体で、細胞外にリシンモチーフ (LysM) を持つ。細胞内に活性型キナーゼドメインを持つタイプ、キナーゼ活性を持たないキナーゼドメインを持つタイプ、細胞内ドメインを持たずに細胞膜にアンカーされるタイプが存在する。

*⁷ リン酸化プロテオミクス

タンパク質にリン酸基を転移させる化学反応をリン酸化と呼ぶ。リン酸化されたタンパク質を網羅的に同定・定量する解析のこと。

*⁸ フォトトロピン

藻類から高等植物まで広く存在する青色光受容体で、N 末端に青色光を受容する LOV ドメインを持ち、C 末端には Ser/Thr キナーゼドメインを持つ受容体型キナーゼである。ゼニゴケには 1 コピー存在し (MpPHOT)、MpPHOT は青色光反応である葉緑体光定位運動の集合反応と逃避反応の両方を制御することから、被子植物モデルであるシロイヌナズナにおいては機能分化したフォトトロピンの祖先的な機能を保持していると考えられている。

*⁹ 分子系統解析

DNA の塩基配列やタンパク質のアミノ酸配列などを用いた系統解析のこと。

*¹⁰ ホモログ (相同遺伝子)

同一の祖先種に由来する遺伝子で、類似した塩基配列をもつ遺伝子のこと。

お問い合わせ先

<研究に関すること>

東京農業大学 生命科学部 バイオサイエンス学科

助教 四井 いずみ

(電話番号) 03-5477-2762

(メール) iy202491@nodai.ac.jp

マックスプランク植物育種学研究所

グループリーダー 中神 弘史

(メール) nakagami@mpipz.mpg.de

<広報に関すること>

学校法人東京農業大学 経営企画部

(電話番号) 03-5477-2300

(FAX) 03-5477-2707

(メール) koho@nodai.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

(電話番号) 050-3495-0247

(メール) ex-press@ml.riken.jp