



配布先: 文部科学記者会、科学記者会、名古屋教育記者会

2024年4月12日

報道機関 各位

活性酸素種はタンパク質の酸化によって植物の免疫を制御する ～耐病性作物の育種やバイオスティミュラントの開発への応用に期待～

【本研究のポイント】

- ・植物が病原菌による攻撃を受けると、免疫応答として活性酸素種^{注1)}を急激に生産する。しかし、発生した活性酸素がどのような役割を果たすかは知られていなかった。
- ・本研究により、活性酸素種は植物の様々なタンパク質を酸化（スルフェニル化^{注2)}することで、免疫応答の制御に関与することが示された。
- ・活性酸素種による酸化のターゲットに着目した耐病性育種やバイオスティミュラント^{注3)}開発の分子基盤確立が期待される。

【研究概要】

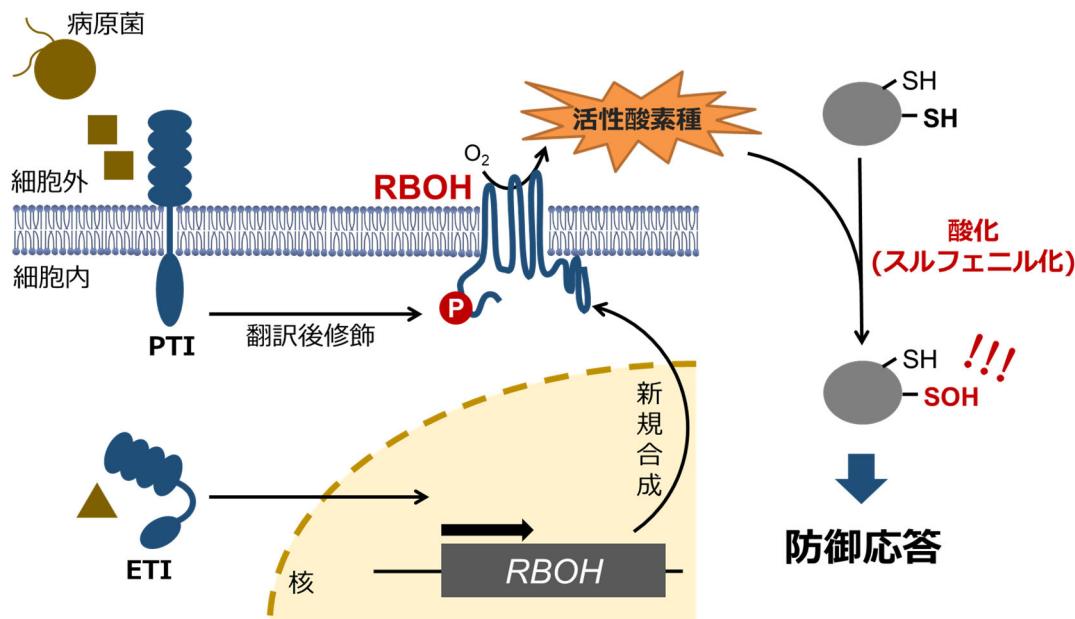
名古屋大学大学院生命農学研究科の吉岡 博文 准教授らの研究グループは、活性酸素によるタンパク質の酸化が植物免疫の制御に関わることを明らかにしました。

活性酸素の生産は植物が病原体の攻撃によって誘導する免疫応答の一つです。これまでに、活性酸素の生産が起こるメカニズムについては多数の研究がなされてきましたが、生産された活性酸素がどのようにして防御応答を担うか？については知見が乏しいままでした。

本研究では、活性酸素種がタンパク質の酸化（スルフェニル化）を介したシグナル伝達によって、下流の防御応答を制御するメカニズムの一端を明らかにしました。また、細胞膜上で活性酸素を生産する酵素である RBOH ^{注4)}がタンパク質の酸化に大きく貢献することを明らかにしました。

本研究成果により解明された、活性酸素種が酸化するタンパク質をターゲットとした耐病性作物の育種やバイオスティミュラントの開発への応用が期待されます。

本研究成果は、2024年4月5日付国際学術雑誌「Journal of Experimental Botany」にオンライン掲載されました。



【研究背景】

植物は病原体の攻撃に対して発動する免疫応答を備えています。免疫応答は植物が認識する物質と発動する応答の持続時間・強度によって、大きく PTI (pattern-triggered immunity) と ETI (effector-triggered immunity)^{注5)} の2種類に分けられます。PTI は一過的な応答であるのに対し、ETI は持続的で最終的に自発的な細胞死を誘導するという相違点があります。その一方で、PTI と ETI の間にはいくつかの共通の反応が存在することが知られており、その一つが活性酸素種の生産です。

植物免疫応答における活性酸素種の生産には、主に原形質膜に存在する RBOH と呼ばれるタンパク質が関与します。植物が病原体を認識するとリン酸化などの翻訳後修飾^{注6)}によってRBOHの活性化が起こり、細胞外で活性酸素種が生産されます。また、持続的な免疫応答である ETI では、新たに RBOH タンパク質の合成が起こり、より堅牢で持続的な活性酸素種生産が誘導されます (図 1)。このように RBOH による活性酸素種生産の誘導メカニズムはよく研究されていますが、発生した活性酸素の役割はよくわかっていませんでした。

活性酸素種の一つである過酸化水素 (H₂O₂) は、タンパク質のシステイン残基を酸化する性質を持ち、タンパク質の酸化を介したシグナル伝達に関与することが細菌や動物では知られています。そこで、植物免疫応答において発生した活性酸素を酸化によって感知する「ROS センサータンパク質」が存在しシグナル伝達を担っているのではないか?と考える研究を行いました。

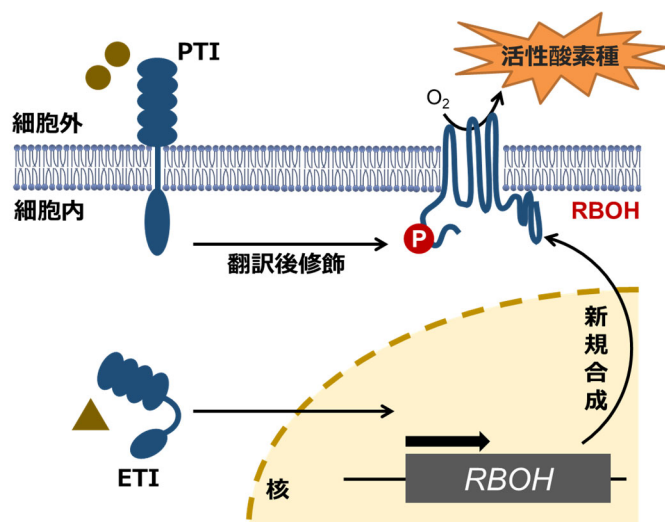


図1. 植物免疫応答における活性酸素種の生産メカニズム。
細胞膜上の RBOH というタンパク質が翻訳後修飾および新規合成により活性化されることで活性酸素種生産が誘導される。

【研究内容】

過酸化水素はまずスルフェニル化と呼ばれる酸化反応をタンパク質に起こし、それに続いて様々な酸化状態に変化していきます (図2)。そこで、タンパク質酸化の出発点であるスルフェニル化の検出を行いました。スルフェニル化の検出には、スルフェニル化されたタンパク質と特異的に結合する性質を持つ化合物であるジメドンを用いました。ジメドンが結合したタンパク質は過酸化水素によって酸化されていたと考えることができます。PTI と ETI それぞれの免疫応答を誘導した植物において、ジメドンの結合を検出したところ、誘導後の時間は異なるもののどちらの免疫応答を誘導した実験区においても、経時的なジメドンの結合が検出されました (図3)。この結果から、植物免疫応答が誘導された際には様々なタンパク質の酸化 (スルフェニル化) が起こることが示されました。

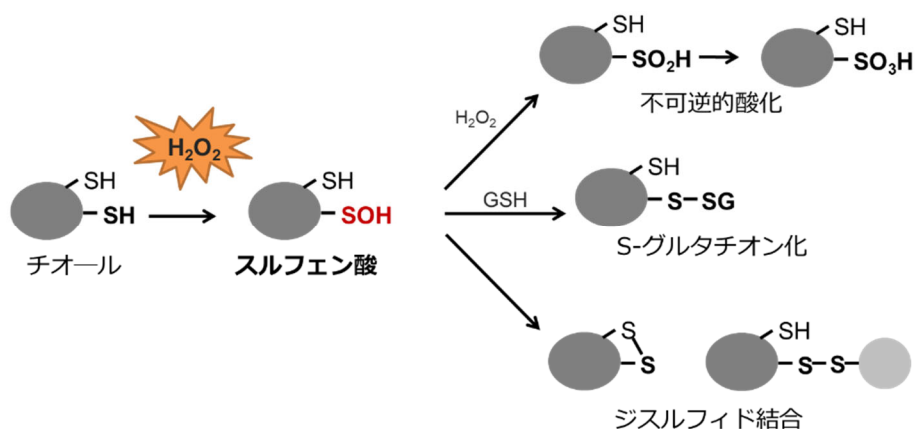


図2. 活性酸素種によるタンパク質の酸化反応。
過酸化水素(H₂O₂)はまずスルフェニル化という酸化反応を起こす。スルフェニル化されたタンパク質はそこからより安定な他の酸化状態に変化していく。

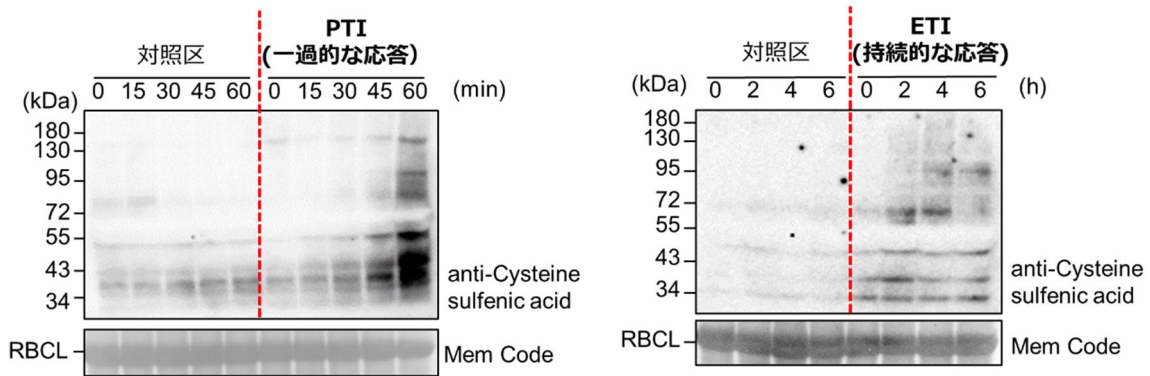


図3. 植物免疫応答誘導時のタンパク質の酸化（スルフェニル化）。

一過的免疫応答である PTI 誘導時(左)、持続的免疫応答である ETI 誘導時(右)。免疫応答のタイプによらず、タンパク質の酸化を示す黒で示されたバンドが経時的に増加している。

植物免疫応答において原形質膜上に存在する RBOH が活性酸素種の生産を担うことが知られています。そこで、RBOH を発現抑制した植物においてタンパク質のスルフェニル化を調べました。その結果、RBOH を発現抑制することによって、植物免疫応答におけるタンパク質のスルフェニル化も抑制されました (図4)。この結果は、RBOH によって生産された活性酸素種が、タンパク質のスルフェニル化に大きく貢献することを示しています。

続いて、タンパク質のスルフェニル化が植物免疫応答の制御に関与するかを調べるため、酸化を介したシグナル伝達の薬理的な阻害実験を行いました。スルフェニル化の検出に用いたジメドンは、スルフェニル化されたタンパク質と結合することで、結合した標的の機能を阻害すると考えられます。ジメドンで処理した植物に病原菌を接種したところ、水処理した植物と比較して、病原菌による感染が促進されました (図 5)。この結果は、タンパク質のスルフェニル化が植物の防御応答を正に制御することを示しています。しかしその一方で、特定の免疫応答はジメドン処理によって逆により強く起こりました。このことは、活性酸素種がスルフェニル化する標的は多数あり、その中には免疫応答に対して正と負の働きを持つ因子が存在する可能性を示しています。

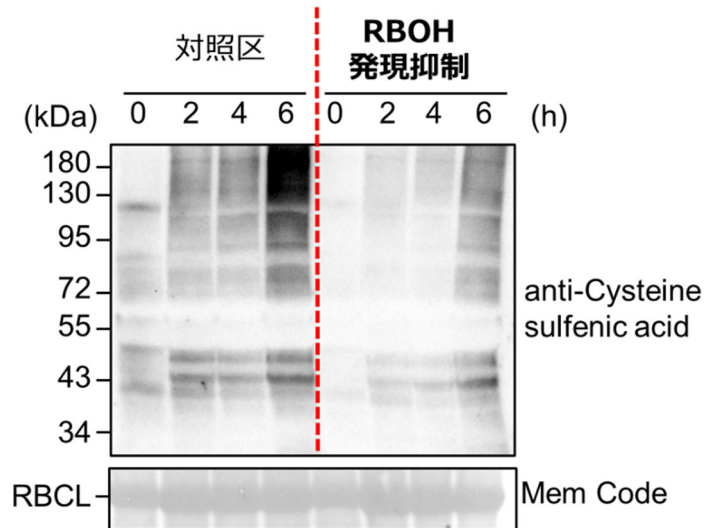


図4. タンパク質の酸化（スルフェニル化）に対する RBOH の関与。
 対照区と比較して RBOH を発現抑制した植物では、タンパク質の酸化を示す黒いバンドが薄くなっている。

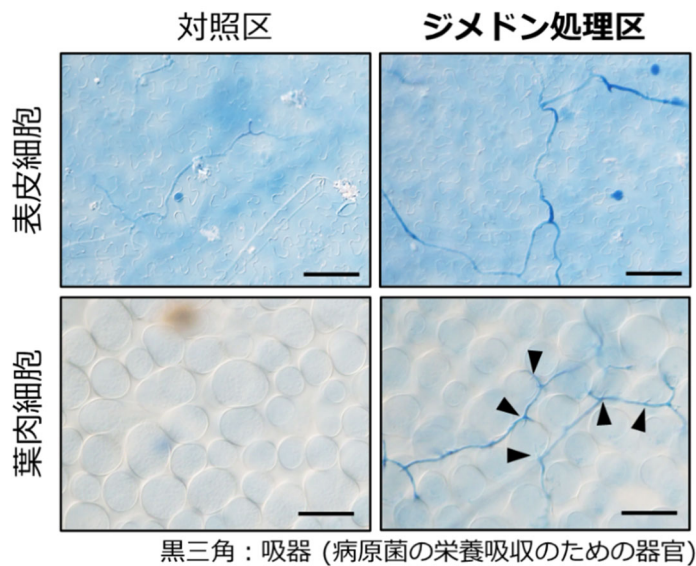


図5. 病原菌感染に対する酸化を介したシグナル伝達阻害の影響。
 対照区と比較してジメドン(酸化を介したシグナル伝達阻害剤)処理区では、病原菌の菌糸がより広範囲に進展し、吸器を複数形成している。

【成果の意義】

本研究は、長年にわたりブラックボックスとなっていた、植物免疫応答における活性酸素種の機能の一端を明らかにしました。この発見を足掛かりにして、植物免疫応答が発動した際に酸化を受けるタンパク質の詳細な解析を行うことによって、植物が備える病気に抵抗する能力を明らかにすることができると考えられます。また、活性酸素種による植物免疫システムを標的とした、耐病性品種の育種や新規バイオスティミュラントの開発への応用が期待されます。

【用語説明】

注1)活性酸素種:

酸素分子 (O₂) に由来する反応性が高い分子の総称。主な活性酸素種として、一重項酸素、スーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシラジカルが挙げられる。

注2)スルフェニル化:

活性酸素種の一つである過酸化水素による酸化反応。タンパク質のシステイン残基の側鎖であるチオール基をスルフェン酸へと酸化する。非常に不安定な分子であり速やかにより安定な酸化状態に変化する。

注3)バイオスティミュラント:

植物やその周辺環境が本来持つ力を活用することで、ストレス耐性や収量などに良い影響を与える資材。

注4)RBOH (respiratory burst oxidase homolog):

植物の細胞膜上に存在するタンパク質で、活性酸素種の生産を担う。酸素分子からスーパーオキシドを生産する。一般的には NADPH oxidase と呼ばれるが、植物では RBOH と名付けられている。

注5)PTI (pattern-triggered immunity)と ETI (effector-triggered immunity):

植物が備える免疫応答。PTIは細胞外に存在する病原菌由来のパターンを認識することで誘導される一過的な応答。一方、ETI は細胞内に病原菌が分泌したタンパク質によって誘導されるより堅牢で持続的な応答。

注6)翻訳後修飾:

タンパク質が mRNA から翻訳された後に、タンパク質に対して付加される修飾のこと。リン酸化や活性酸素種による酸化などが挙げられる。

【論文情報】

雑誌名: Journal of Experimental Botany

論文タイトル: NADPH oxidase-mediated sulfenylation of cysteine derivatives regulates plant immunity

著者: Yuta Hino, Taichi Inada, Miki Yoshioka, Hirofumi Yoshioka

DOI: 10.1093/jxb/erae111

URL: <https://doi.org/10.1093/jxb/erae111>