

2007年3月19日

独立行政法人 理化学研究所

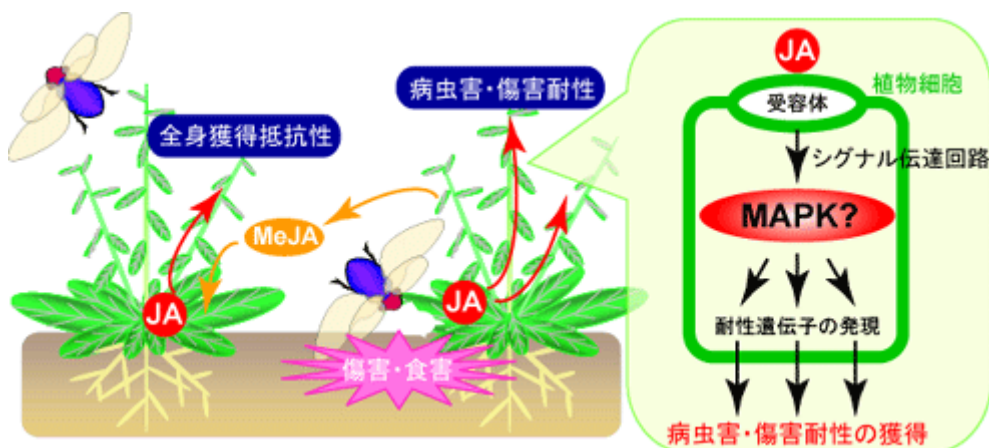
## 植物の耐病・耐傷害メカニズムを操る新規 MAPK 経路を発見

- 病虫害・傷害耐性などストレスに強い植物の開発に期待 -

お茶や香水などでよく知られているジャスミン。最近、リラックス効果のあるアロマとしても注目されています。その香り成分は、実は「ジャスモン酸 (JA)」という植物ホルモンです。植物におけるジャスモン酸の働きは、老化促進や生育阻害、病傷害応答に関与することが報告されています。特に傷害、病原菌の感染、水欠乏などのストレスがかかるとジャスモン酸量は急激に増加します。このジャスモン酸がシグナル (情報伝達) のスイッチとなりストレスに対する防御遺伝子などを発現させ、植物はストレス耐性能力を獲得します。動物が免疫機構を持っているように、こうして植物も昆虫、病原体、草食動物から身を守っているのです。ところがこの身を守る耐性能力を植物がどのように獲得しているのかは、わからないままとなっていました。

理研植物科学研究センター機能開発研究チームは、このジャスモン酸シグナルが細胞内で伝達されるメカニズムを遺伝子レベルで解明し、新規の「MKK3-MPK6」経路を発見しました。この経路がジャスモン酸による防御応答機構を動かす重要な回路であることを突き止めたのです。

ジャスモン酸の働きを遺伝子レベルでコントロールすることで、病虫害・傷害耐性植物の開発や、農薬に頼らない生産システムを確立することも夢ではありません。



(図)傷害・食害により引き起こされる JA を介した耐性獲得の概念

2007年3月19日  
独立行政法人 理化学研究所

## 植物の耐病・耐傷害メカニズムを操る新規 MAPK 経路を発見

-病虫害・傷害耐性などストレスに強い植物の開発に期待-

### ◇ポイント◇

- ・植物ホルモン「ジャスモン酸」のシグナルを制御する「MKK3-MPK6」経路を発見
- ・病虫害・傷害に関わる遺伝子群や根の伸長阻害を制御する重要な経路
- ・植物の免疫機構を活用し強い植物を開発、食料問題解決の糸口に

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、国立大学法人筑波大学（岩崎洋一学長）との協力で、植物が病虫害や傷害ストレスを受けた時に応答する鍵となっている植物ホルモン「ジャスモン酸（JA：Jasmonic Acid）<sup>\*1</sup>」のシグナルを制御する「MKK3-MPK6」経路を発見しました。さらに、この経路を利用して、病虫害・傷害に関わる遺伝子群の発現を制御する事に世界で初めて成功しました。理研植物科学研究センター（篠崎一雄センター長）機能開発研究グループの篠崎一雄グループディレクター、高橋史憲ジュニア・リサーチ・アソシエイト（筑波大学大学院）と筑波大学遺伝子実験センター（鎌田博センター長）の吉田理一郎研究員、溝口剛助教授らによる研究成果です。

JAは、生長抑制や形態形成など多岐に渡る生長調整作用を示す植物ホルモンです。また、病虫害や傷害などのストレスを受けると合成され、植物の環境ストレスに対する耐性誘導に重要な役割を果たしています。さらに動物では、がん細胞への抑制効果を発揮することが知られており最近注目を集めています。しかしこれまで、JAがどのような仕組みで植物にストレス耐性を付与しているのかは、明らかにされていませんでした。

今回の研究では、傷害・病原菌感染ストレスの情報伝達に関与することが示唆されている動植物に共通的なシグナル伝達分子「MAPK（マップキナーゼ）<sup>\*2</sup>」に着目し、新規のシグナル伝達経路「MKK3-MPK6」を発見しました。また、この「MKK3-MPK6」経路がJAシグナルに関わり、植物の病虫害・傷害耐性における遺伝子群の発現を制御する重要な回路であることを初めて明らかにしました。さらに、JAによる根の伸長阻害も制御する機能を持つことをつきとめました。今回の発見は、植物におけるJAシグナル制御図の全体像を解明する鍵となる画期的な成果です。

昆虫・病原菌や草食動物による食害・傷害は、作物に収量の減少や品質の低下を引き起こすため、農業上の大きな問題となっています。今回の研究成果は病虫害・傷害耐性植物の開発など、農業・園芸分野の応用へ貢献するものと期待されます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*The Plant Cell*』（3月号）に掲載されます。

### 1. 背景

植物ホルモンの一種であるジャスモン酸（JA：Jasmonic Acid）は、脂肪酸の一つであるリノレン酸を前駆体として生合成される物質で、ジャスミン油の香気成分の一つとして知られています（図1）。JAは外敵による摂食などの傷害や病原菌感

染、また水欠乏などの環境ストレスを受けた時に合成され、植物がこれらのストレスに対する耐性を獲得するための遺伝子を発現させるシグナル物質として働いています。またメチル化され、ジャスモン酸メチル (MeJA) は揮発性に優れ、気孔から空中に飛散し、傷害を受けた植物の周囲の植物にあらかじめ抵抗性を促す忌避物質としても働きます。

生物はストレスに対して、最初から防御応答機構を用意しているわけではなく、新たなストレスが与えられると、その都度、適切に対処する仕組みを進化の中で作り出してきました。このストレスの受容から応答に至る道筋を明らかにすることは、基礎研究のみならず応用研究にも役立ちます。しかし、JA に関する研究が進み始めたのはごく最近であるため、JA シグナルに関わる因子はほとんど明らかになっていません。これまで、傷害・病原菌感染ストレスの情報伝達には、MAPK (マップキナーゼ) が関与することが示唆されてきましたが、JA が細胞内のどのような機構を介して、植物の環境ストレスへの耐性能の獲得に関与しているのかは、まだよく解明されていませんでした (図 2)。

植物と昆虫、病原菌、草食動物の間で交わされている JA を介した複雑なメカニズムを詳細に解き明かすことは、農薬に依存せず農作物、園芸植物などの生産性を制御し、とくにこれから直面するとされる世界的な規模の食糧問題に備えるなど、応用・利用につながる新たな光になると考えられます。

## 2. 研究手法と成果

植物が傷害や菌の感染を受けるとJA量が増加し、JAの作用によって、害虫の摂食を抑えるプロテアーゼインヒビター (タンパク質分解酵素阻害物質) や、病原菌の感染を防ぐ様々な感染時特異的タンパク質を全身に誘導します。また、新たな菌の感染に備える全身獲得抵抗性などの防御機構を活性化します。この防御機構は、植物が昆虫・病原菌や草食動物による食害・傷害に耐えるために獲得した免疫機構と呼べます。

今回の研究では、シロイヌナズナに約 90 の遺伝子が存在するMAPKファミリーの中で、特に植物特異的な構造を持っているMAPKKの1つであるMKK3に着目しました。詳細な解析からMKK3はMAPKの1つであるMPK6を活性化し、新規のMAPK経路「MKK3-MPK6」として働くことを発見しました (図 3)。MKK3-MPK6経路の生理機能を探索する目的で、MKK3経路を強制的にONにし、約 22,000 遺伝子の発現変動が一度に解るマイクロアレイを用いて解析を行いました。その結果、MKK3-MPK6経路は植物の病虫害・傷害耐性に関わる遺伝子群の発現を制御することが明らかとなりました (図 4)。さらにMKK3経路は、JAシグナル伝達で主要な働きをするbHLH (basic helix-loop-helix)型転写因子<sup>\*3</sup>であるATMYC2の遺伝子発現を制御することで、JAを介した防御機構を活性化することが明らかとなりました。

これらのことから、JAの生理応答を伝達する情報伝達経路を初めて見つただけでなく、MKK3-MPK6経路が植物の傷害・病原菌感染ストレス応答において、重要な働きを持っていることを初めて明らかにしました。一方、過剰にJAが生産されると、根が伸長阻害を引き起こすことが知られていました。しかし今回、MKK3、MPK6を過剰に発現させたシロイヌナズナにJAを過剰投与すると、根の伸長阻害に対して耐性を示しました。逆にMKK3、MPK6遺伝子の働きが失われた植物体では、根の伸長に対して感受性を示しました (図 5)。

つまり、MKK3-MPK6経路の働きを強めることによって、病虫害・傷害に対する防御機構を活性化するだけでなく、本来JAによって引き起こされる根の伸長阻害に対しても耐性となり、ストレスのかかっている植物のように生育させることが可能となりました。この結果は、遺伝子工学によるMKK3-MPK6回路を用いた応用利用への可能性を秘めており、植物の昆虫・病原菌や草食動物に対する耐性機構を制御するための礎となることが期待されます。

### 3. 今後の期待

現在、農業生産高は、発展途上国を含めて多くの国で頭打ちとなっています。このため、人口の増加などでやがて訪れる世界的な食糧問題に対して確実な打開策が必要になるとされています。病虫害による農作物などの生産量の損失は甚大で、その実被害は、世界全体での損失量の約40%にも上ると報告されています。これは生産現場に新品種や肥料が導入されている反面、病虫害対策が追いついていないのが一つの原因と言われています。

植物ホルモンJAのシグナル伝達を制御する技術は、植物と病虫害、草食動物との間で繰り広げられてきた複雑な生存戦略を上手く利用して、病虫害に耐性を持つ植物を作出し、農業における生産性を向上させることにつながる可能性があります。実際、MKK3やMPK6遺伝子と塩基配列が類似した遺伝子は、他の植物種にも存在しています。今後はイネやマメ、ジャガイモ、トウモロコシなどの有用植物を用いて、生産高の違いや虫を寄せ付けない成分の効き目などを評価することも重要になってきます。

さらに動物細胞においては、JAががん細胞に対して抑制効果を示すことも報告されています。MAPK回路は動物にも存在することから、今回明らかとなったMAPK回路を介したJA情報伝達の仕組みは、創薬開発などの医療応用面へ展開する道標になることも期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

植物科学研究センター 機能開発研究チーム

チームリーダー 篠崎 一雄 (しのぎき かずお)

Tel : 045-503-9578 / Fax : 045-503-9580

ジュニア・リサーチ・アソシエイト 高橋 史憲 (たかはし ふみのり)

Tel : 029-836-4359 / Fax : 029-836-9060

横浜研究推進部 企画課

Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 ジャスモン酸(JA)

植物ホルモンの一種。動物細胞の生理活性物質として知られるプロスタグランジン類と同様な5員環ケトンを持つ化合物である。ジャスモン酸は植物体内のどこでも合成されるが、隣接する場所だけでなく植物体内の別の離れた部位にも輸送される。植物個体間での移動は昆虫による摂食傷害を受けた際などに起き、ジャスモン酸メチルに変換されることによって揮発性を上げ、飛散してシグナルを伝達する。

### ※2 MAPK(マップキナーゼ)

酵母から動物に至る真核生物に広く保存されているリン酸化タンパク質の一群。増殖因子などによる細胞外からの刺激を伝え、細胞増殖や細胞分化において中心的な役割を果たすシグナル伝達経路として知られている。細胞外環境の情報を生物が受容すると、そのシグナルがMAPKKK (マップキナーゼキナーゼキナーゼ) →MAPKK (マップキナーゼキナーゼ) →MAPK (マップキナーゼ) の決まった順に、リン酸化を介して伝達される。シロイヌナズナにはMAPKKKが60、MAPKKが10、MAPKが20遺伝子存在することが示唆されている。

### ※3 bHLH(basic helix-loop-helix)型転写因子

bHLH型転写因子は動物と植物に共通して存在することが知られている。HLHはループを介した二つの $\alpha$ ヘリックス構造からなる2量体形成部位であり、この部分でDNAらせんの主溝に入り込み特定のDNA塩基配列を認識し結合する。シロイヌナズナには約140遺伝子存在することが示唆されており、全転写因子の約9%を占める最大のファミリーを形成している。

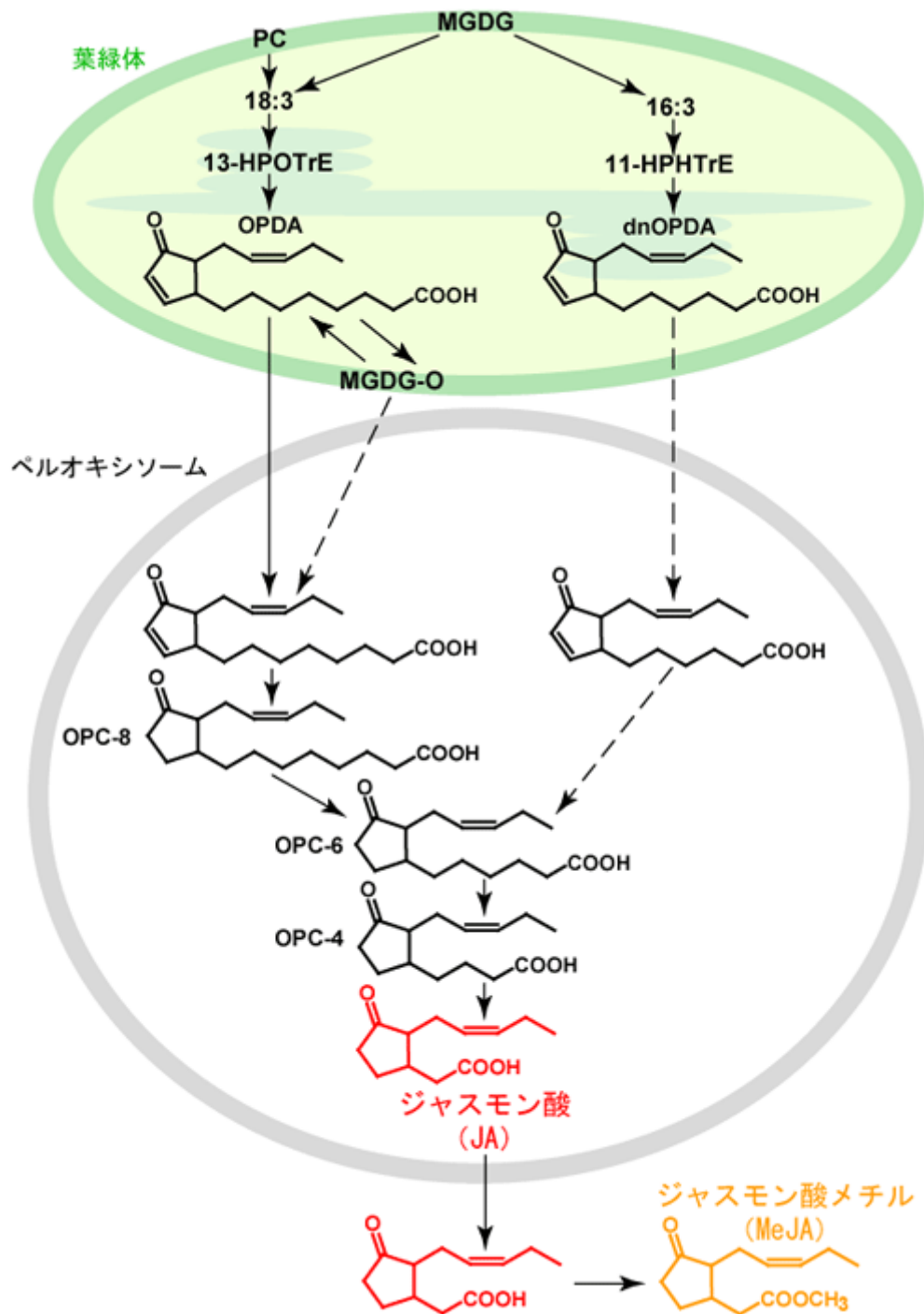


図1 植物におけるジャスモン酸の生合成経路とその局在

ジャスモン酸の生合成は、前半部分が葉緑体で後半部分がペルオキシソームで行われる。葉緑体膜に存在するモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) やホスファチジルコリン (PC) などの膜脂質から、リノレン酸が切り出されることで生合成が開始する。

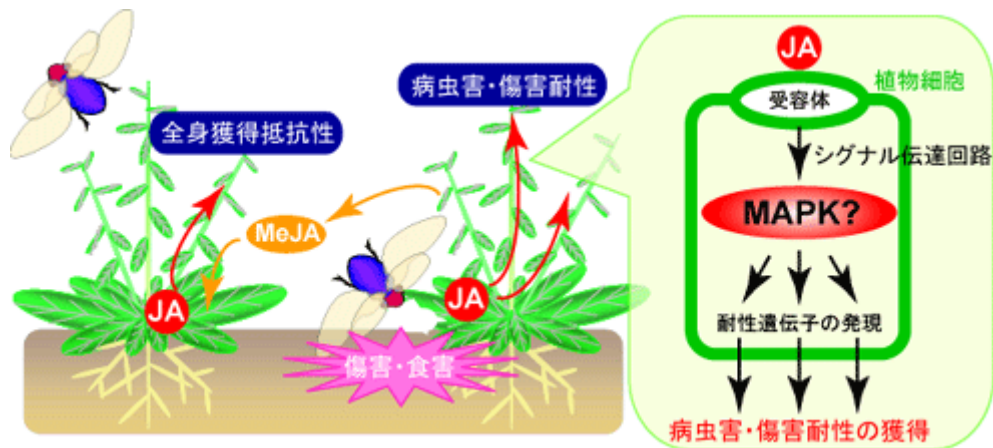


図2 傷害・食害により引き起こされる JA を介した耐性獲得の概念図

傷害・食害により JA が生成されることで、様々な防御応答遺伝子が発現し、植物はストレス耐性を獲得する。しかし、どのような細胞内のシグナル伝達回路を介して、耐性能を獲得しているのかは明らかとなっていない。

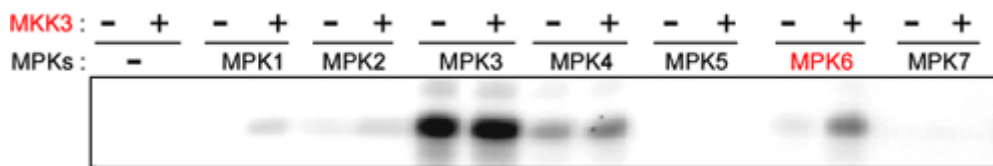


図3 MKK3 は MPK6 を特異的に活性化する

シロイヌナズナの MAP キナーゼ (MPK1~MPK7) を用いて、MKK3 がどの MAP キナーゼを活性化するかを検討した。±は MKK3 の有無を示す。各 MAPK に MKK3 を加える前 (-) と加えた後 (+) でバンドの濃さに変化がある (濃くなる) と活性化が起きていることを示す。MPK6 のバンドで特に変化が大きく、強く活性化されることが明らかとなった。これは新規の「MKK3-MPK6」経路を発見したことを示す。

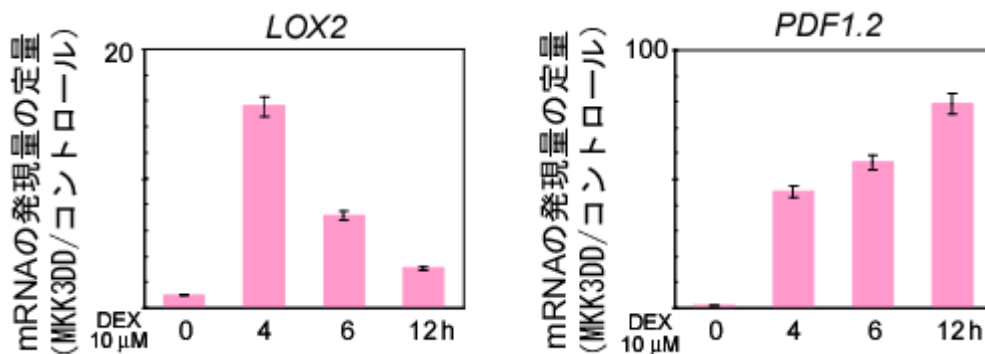


図4 MKK3 は傷害・食害耐性遺伝子の発現を制御する

MKK3 が制御する遺伝子群の探索を行った。活性型 MKK3 (MKK3DD) をシロイヌ

ナズナに遺伝子導入し、デキサメタゾン (DEX) を任意の時間処理することで、MKK3 が発現する植物体を作製した。MKK3 遺伝子を発現させることで、植物体中では MKK3 経路が ON になり、MKK3 経路で制御される遺伝子群の発現が変動する。JA の合成酵素である *LOX2* や傷害・食害耐性遺伝子である *PDF1.2* の発現が上昇することが明らかとなった。*LOX2* の発現量は MKK3 経路を活性化させてから、4 時間目に一過的にピークを迎える。一方 *PDF1.2* は徐々に発現量が増加する事がわかる。これは MKK3 経路が病虫害・傷害に対する防御機構を活性化していることを示す。

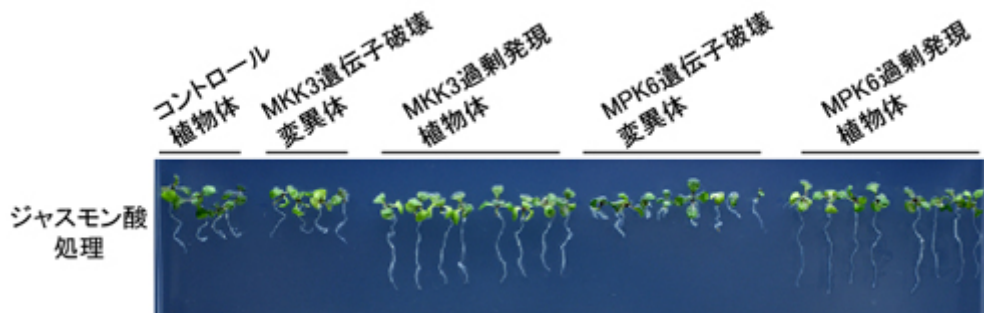


図 5 MKK3、MPK6 過剰発現植物体・遺伝子破壊変異体の写真

MKK3、MPK6 を過剰発現させると、根の伸長阻害に対し耐性を示す。逆に MKK3、MPK6 遺伝子の機能が失われると感受性を示す。従って、MKK3-MPK6 回路は病虫害・傷害に強い作物を作り出す遺伝子工学的なツールとして使用可能である。