

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		化合物探索から単離したサリチル酸アゴニストを用いた植物免疫ホルモンの受容機構解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of perception mechanism of immune phytohormone salicylic acid using an agonist isolated from a chemical screening			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓)ノウトシ	名)ヨシテル	研究期間 B	2009 ~ 2011 年
	漢字 CB	能年	義輝	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Noutoshi	Yoshiteru	研究機関名	岡山大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		岡山大学・異分野融合先端研究コア・助教(特任)			
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>植物は病原体が放出するエフェクタータンパク質を免疫受容体によって感知し、病害抵抗性反応を誘導することで耐病性を発揮する。この反応は植物の内生物質であるサリチル酸を介したシグナル伝達機構によって制御されているが、サリチル酸受容機構は未解明である。これはサリチル酸が小分子で、活性を損なわずに担体に架橋することが困難な為、生化学的な結合タンパク質の精製に適さないということが一つの要因と考えた。我々は植物の病害抵抗性反応を感染時特異的に活性化する薬剤の網羅的探索から CB_6 と名付けた化合物を得た。そこで本研究ではCB_6を用いたビオチン化プローブの作製によってサリチル酸受容分子の同定を試みた。</p> <p>CB_6の詳細な解析を行ったところ、サリチル酸によって発現誘導される遺伝子群の一部のみを活性化することがわかった。またCB_6はサリチル酸がジャスモン酸に対して示す拮抗作用を持たなかった。つまりCB_6はサリチル酸のパーシャルアゴニストであることが明らかになり、ホルモン受容体の同定に有効なツールであることが示された。</p> <p>CB_6の遊離のアミノ基を利用したビオチン化を試みたものの、反応性が低いことが判明し、残念ながら当初予定したプローブ合成ができなかった。そこでCB_6類縁体を使ったプローブ合成を行い標的的精製実験を進めている。</p> <p>またCB_6に対して非感受性を示すシロイヌナズナ変異体を探索してその原因遺伝子から標的に迫るケミカルジェネティクス法を同時並行的に進めた。約5万のシロイヌナズナEMS変異種子からCB_6が示す生育抑制効果に対して非感受性を示す変異体をスクリーニングした。結果として3つの <i>sgi(SA agonist insensitive)</i> 変異体の獲得に成功した。これらの変異体はサリチル酸誘導性の防御遺伝子を恒常的に発現していることが確認された。これはサリチル酸受容に関わる分子の機能不全によるフィードバック制御の結果と推測される。そこで現在次世代シーケンサーによる変異点の同定を進めている。</p>					
キーワード FA	植物免疫	サリチル酸	植物ホルモン	受容体	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Plants recognize pathogen-derived effector proteins and induce disease resistance responses. A phytohormone salicylic acid (SA) is required in this process, however, its perception mechanism is still unclear. Since SA is small molecule, it seems to be difficult to bind to resin with activity for affinity purification. We isolated a compound named CB_6 from an original screening method for chemicals which potentiate plant immune response. We found that CB_6 induced a particular range of SA-responsive genes. Unlike SA, CB_6 did not possess antagonistic effect against jasmonic acid. These results indicate that CB_6 is a partial agonist of SA and it can be a useful tool for target identification of SA. Then, we tried to synthesize CB_6-tethered biotinylated probe but it was failed due to no reactivity of a free amino group in CB_6. Another approach using CB_6 derivatives is now in progress.

We then shifted our strategy to chemical genetics approach. We carried out a screening for Arabidopsis mutants that showed insensitivity to growth reduction effect of CB_6. From 50,000 EMS seeds three mutants named *sgi* for SA agonist insensitive were successfully isolated. We found that they expressed defense genes constitutively and we expect that it might be due to a feedback regulation caused by loss of a particular molecule of SA perception. Mutations are now explored by next-generation sequencing.