

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		植物耐病性機構の解明を目指した植物-病原微生物相互作用のイメージング解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Imaging analysis of plant-microbe interaction			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓)ハツガイ	名)ノリユキ	研究期間 B	2010～ 2012年
	漢字 CB	初谷	紀幸	報告年度 YR	2012年
	ローマ字 CZ	Hatsugai	Noriyuki	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		北海道大学連携研究センター・特任助教			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p><目的></p> <p>ポストゲノム時代を迎え、モデル植物を中心に生命現象に関わる分子群とそれらの相互作用に関する膨大な情報が得られるようになった。しかしながら、大部分の情報は断片的であり、生命現象の包括的な理解には程遠い。より包括的な理解に迫るためには、細胞や組織において特定の生体分子がいつ、どこで、どのように、どの分子と相互作用し機能しているのかを正確に知る必要がある。そこで本研究では、バイオイメージングの技術を用いて、過敏感細胞死の実行プロセスで働く分子の機能動態をリアルタイムに観察し、植物の病害抵抗性反応の時間的・空間的制御メカニズムを動的に解明することを目的とした。</p> <p><結果></p> <p>1. 感染細胞におけるプロテアソームの機能動態</p> <p>細菌感染にともなってプロテアソームで分解されることが想定される機能タンパク質に Venus 蛍光タンパク質を繋げて植物細胞内で発現させた。蛍光の消失を観察することによってタンパク質が分解されるタイミングおよびプロテアソーム活性の動態をリアルタイムにイメージングすることに成功した。この研究成果は投稿論文準備中である。</p> <p>2. 感染細胞における ATP の動態解析</p> <p>過敏感細胞死の実行プロセスを解析する過程で、細胞内ATPが過敏感細胞死の実行に関与することを発見した。そこで細胞内のATP濃度をリアルタイムでイメージングすることができる蛍光ATPプローブを発現するシロイヌナズナ形質転換体を作出した。この植物を用いることによって、細胞の形態変化とATP濃度の増減を“生きたまま”リアルタイムに可視化することに成功した。定常状態における細胞内ATP濃度の基本的性質を解析し、細胞内ATP濃度の空間分布を明らかにした。また、病原性細菌と非病原性細菌の感染を受けた植物細胞の形態変化と細胞内ATP濃度の変化を同時にイメージングすることに成功した。本研究成果はPlant Cell and Physiology誌に発表した。</p> <p><今後の展望></p> <p>植物の免疫発現のための細胞内 ATP の役割・制御機構を明らかにするとともに、細胞内の ATP 濃度とプロテアソーム活性の関係をバイオイメージングの技術を用いて時間的・空間的に明らかにしていきたい。</p>					
キーワード FA	植物免疫	細胞死	ATP		

(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}	Changes in Cytosolic ATP Levels and Intracellular Morphology during Bacteria-Induced Hypersensitive Cell Death as Revealed by Real-Time Fluorescence Microscopy Imaging							
	著者名 ^{GA}	Hatsugai et al.	雑誌名 ^{GC}	Plant Cell and Physiology					
	ページ ^{GF}	In press	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}

Hypersensitive cell death is known to involve dynamic remodeling of intracellular structures that uses energy released during ATP hydrolysis. However, the relationship between intracellular structural changes and ATP levels during hypersensitive cell death remains unclear. Here, to directly visualize ATP dynamics in real time in individual living plant cells, we applied a genetically encoded Förster resonance energy transfer (FRET)-based fluorescent ATP indicator, ATeam1.03-nD/nA, for plant cells. Intracellular ATP levels increased approximately 3 h after inoculation with the avirulent strain DC3000/*avrRpm1* of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), which was accompanied by the simultaneous disappearance of transvacuolar strands and appearance of bulb-like structures within the vacuolar lumen. Approximately 5 h after bacterial inoculation, the bulb-like structures disappeared and ATP levels drastically decreased. Two hours later, the large central vacuole was disrupted. In contrast, no apparent changes in intracellular ATP levels were observed in the leaves inoculated with the virulent strain *Pst* DC3000. The *Pst* DC3000/*avrRpm1*-induced hypersensitive cell death was strongly suppressed by inhibiting ATP synthesis after oligomycin A application within 4 h after bacterial inoculation. When the inhibitor was applied 7 h after bacterial inoculation, cell death was unaffected. These observations show that changes in intracellular ATP levels correlate with intracellular morphological changes during hypersensitive cell death, and that ATP is required just before vacuolar rupture in response to bacterial infection.