

令和7年5月1日

報道機関 各位

## 植物免疫を巧みに回避する病原性細菌の巧妙な生存戦略を解明 ～イミノ糖 glycosyrin の発見が植物病害防除と生産性向上に道を拓く～

### ■ 概要

富山大学附属病院薬剤部の加藤 敦 教授の研究グループは、英国オックスフォード大学を中心とする国際共同研究チームと連携し、植物病原性細菌がイミノ糖<sup>※1</sup> の一種である glycosyrin<sup>※2</sup> を産生し、植物免疫において病原体の侵入を感知し、防御応答を誘導する鍵酵素である  $\beta$ -ガラクトシダーゼ (BGAL1)<sup>※3</sup> の活性を阻害することにより、宿主植物の免疫応答を回避する分子機構を解明しました。

本研究により、植物が分泌する BGAL1 が、植物病原性細菌由来の免疫原性ペプチド<sup>※4</sup> の放出を促進する一方で、細菌側は glycosyrin と呼ばれる低分子阻害剤を分泌することで、BGAL1 の酵素活性を抑制するという対抗的な免疫回避機構を有することが明らかとなりました。さらに、glycosyrin は、ピロリジン環に特徴的な安定構造である geminal ジオール<sup>※5</sup> を有する新規イミノ糖であり、BGAL1 の活性部位におけるガラクトースの結合様式を巧妙に模倣することにより、その活性を阻害していることが明らかとなりました。

これらの研究成果は、米国科学振興協会 (AAAS) が発行する科学誌『Science』(4月17日付：日本時間4月18日) に掲載されました。

### ■ 研究背景

植物は、細菌・真菌・卵菌などの病原体を識別し、それぞれに応じた防御反応を誘導する能力を備えています。一方で、病原性細菌も進化の過程で、エフェクター<sup>※6</sup> と呼ばれる分子を分泌し、植物の免疫応答を抑制することで感染を成立させる戦略をとっています。なかでも、植物の細胞外空間であるアポプラスト<sup>※7</sup> は、宿主と病原体との攻防が繰り広げられる重要な場として注目されていますが、ここでの分子レベルの相互作用には未解明な点が多く残されています。

近年の研究により、モデル植物である *Nicotiana benthamiana* (ベンサミアナタバコ) とグラム陰性細菌 *Pseudomonas syringae* (シュードモナス・シリングエ) との相互作用において、植物が分泌する BGAL1 が病原体の糖鎖化鞭毛を分解し、免疫原性ペプチドを放出することで植物免疫を活性化させることが明らかとなりました。しかし、この植物の防御機構に対抗する細菌由来の阻害分子の実体と作用機序については、これまで不明のままでした。

## ■ 研究成果

### クライオ電子顕微鏡による glycosyrin の構造解析

Glycosyrin の分子構造を解明するため、His タグ<sup>※8</sup> を付加した LacZ を金属親和性樹脂に固定化し、野生型 *P. syringae* の粗分泌液から glycosyrin を捕捉しました。イミダゾールによる洗浄および溶出操作の結果、glycosyrin と結合した LacZ–glycosyrin 複合体の取得に成功しました（**図 1A**）。この複合体をクライオ電子顕微鏡（cryo-EM）<sup>※9</sup> で 1.9Å の分解能で解析したところ、 $\Delta gsn$  変異体では観察されない活性部位に特異な電子密度が検出されました。この密度解析により、glycosyrin が 5 員環構造を持ち、2 つの水酸基および 1 つの分岐した geminal ジオール基を含む 3 つのキラル中心を有していることが明らかとなりました。さらに、glycosyrin を化学合成したうえで、LacZ との複合体構造を 1.4Å の分解能で再構築した結果、この構造は天然型 glycosyrin と完全に一致しており、その分子構造の正確性が確認されました（**図 1B**）。

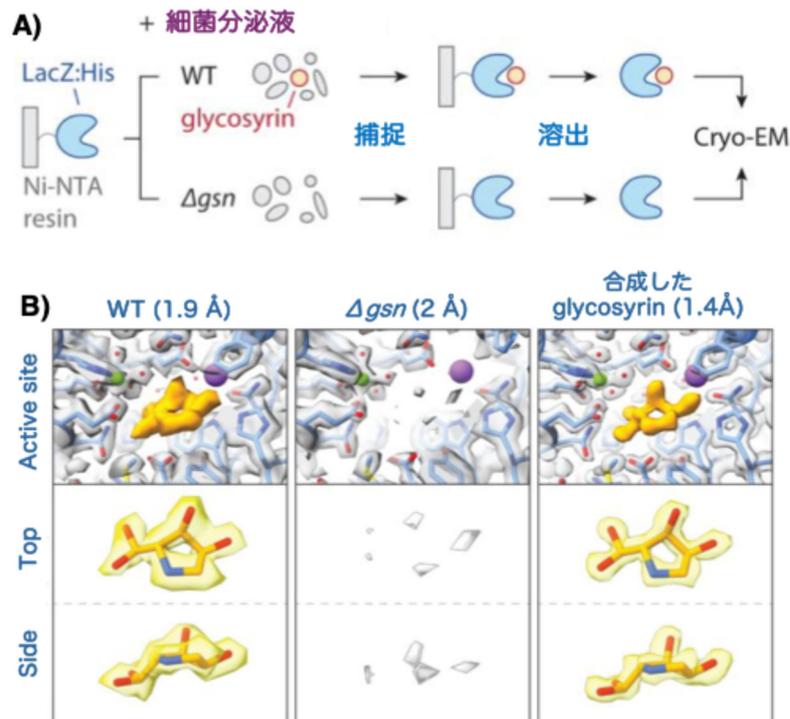


図 1. 高分解能クライオ EM により明らかにされた glycosyrin の構造

### 阻害メカニズムの解明

構造解析の結果、glycosyrin が LacZ の活性部位に結合し、天然基質であるガラクトースのヒドロキシル基の配向を正確に模倣していることが明らかとなりました（**図 2**）。特に、5 員環構造内の分岐したジヒドロキシ基が、6 員環構造を持つガラクトースの立体配置を巧妙に擬態している点が注目されます。

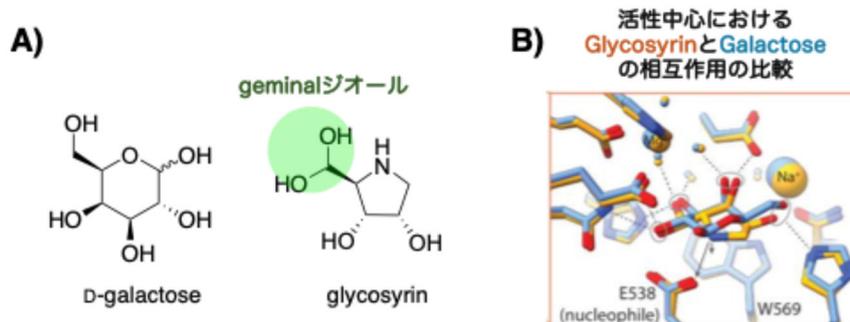
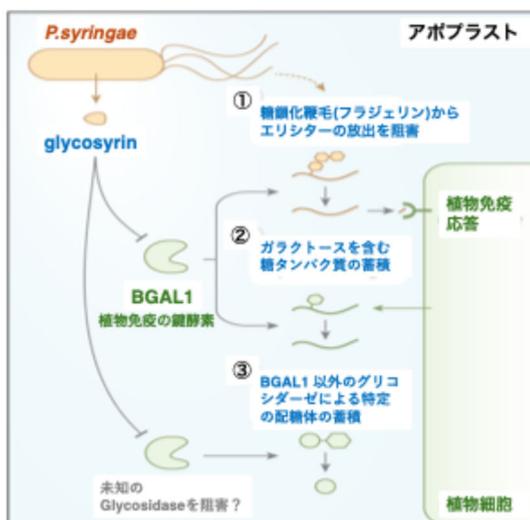


図 2. 特徴的な geminal ジオールを持つピロリジン型新規イミノ糖 glycosyrin の構造 (A) と活性中心における glycosyrin と galactose の結合相互作用の類似性 (B)

### Glycosyrin の多面的な作用とその生物学的意義

Glycosyrin は BGAL1 の阻害作用にとどまらず、植物のアポプラストにおける糖タンパク質や配糖体の蓄積を誘導することが明らかとなりました (図 3)。さらに、感染した植物の細胞質では、glycosyrin がガラクトシルグリセロールおよびトレハロースの蓄積を促進することが確認されました。これらの効果は BGAL1 の阻害とは独立しており、他のグリコシダーゼの阻害によるものと考えられます。

一般的に病原細菌は、アポプラスト内に糖や代謝産物を蓄積させることで栄養を確保しますが、トレハロースやガラクトシルグリセロールは *P. syringae* により *in vitro* で利用されないことが示されています。したがって、これらの化合物は単なる栄養源にとどまらず、浸透圧調整などアポプラスト内の環境変化を引き起こす役割を果たしていると推察されます。加えて、これらの糖類の蓄積は植物の防御応答を抑制し、病原体の感染や定着を促進している可能性があります。



#### 病原性細菌が産生する glycosyrin による BGAL1 の阻害と植物免疫の回避機構

- ① Glycosyrin の主な標的の1つが BGAL1 であり、この酵素活性を阻害することで、免疫原性ペプチドの生成を抑制し、植物の免疫応答を回避している。
- ② Glycosyrin による BGAL1 の阻害は、アポプラスト内での糖タンパク質のプロセッシングも妨げ、ガラクトースを含む糖タンパク質の蓄積を引き起こす。
- ③ さらに、glycosyrin は BGAL1 以外のグリコシダーゼにも作用する可能性があり、アポプラスト内に特定の配糖体が蓄積されることも示唆されている。

図 3. 病原性細菌が glycosyrin を産生することでエリシター<sup>※10</sup> を介した植物免疫を巧みに回避する仕組み

Glycosyrin の合成に関与する遺伝子群は、多くの植物由来の細菌株に共通して存在しており、BGAL1 阻害や配糖体蓄積を通じた免疫回避は、植物界に広く見られる普遍的な感染戦略であると考えられます。

## ■研究の意義と今後の展望

本研究により明らかとなった、glycosyrin が植物の免疫応答を回避するメカニズムは、植物病害に対する新たな防御戦略の理解に貢献するだけでなく、病原細菌による感染抑制に向けた新たなアプローチの創出にもつながる可能性があります。特に、glycosyrin が BGAL1 を特異的に阻害し、アポプラスト内の環境変化を引き起こすことにより、病原菌が植物の防御機構を回避するメカニズムを解明したことは、今後の農業における病害管理において非常に重要な知見を提供します。

また、glycosyrin の作用メカニズムに基づく新たな農薬や防除技術の開発は、化学農薬への依存を軽減し、環境への負荷を低減する持続可能な農業の実現に寄与することが期待されます。このように、本研究成果は、植物病害の制御に向けた革新的な解決策を提供し、将来的には作物の生産性向上と環境保護の両立に向けた重要な一歩となると考えられます。

## 【用語解説】

### ※1 イミノ糖 (Iminosugar)

イミノ糖は、糖の構造を擬態した水溶性アルカロイドの総称であり、糖環内の酸素原子が窒素原子に置換された化合物群である。多くの場合、グリコシダーゼや糖転移酵素の競合的阻害剤として作用し、抗ウイルス、抗腫瘍、抗糖尿病作用など、さまざまな生物活性を示すことから創薬研究において注目されている。

### ※2 Glycosyrin

本研究で解明した glycosyrin は、*Pseudomonas syringae* 由来の新規なイミノ糖であり、植物由来の  $\beta$ -ガラクトシダーゼ (BGAL1) に対して阻害活性を示す低分子阻害剤である。本化合物は、ピロリジン環を有し、geminal ジオール構造を含む独特の三次元立体配置を持つ。BGAL1 の基質であるガラクトースの構造と電子的・立体的に類似することで、基質結合部位に対するミメティクスとして作用し、酵素活性を阻害する。

### ※3 $\beta$ -ガラクトシダーゼ (BGAL1)

BGAL1 は  $\beta$ -D-ガラクトシド結合を加水分解する加水分解酵素であり、植物では細胞

外に分泌され、病原体由来の糖修飾タンパク質（例：糖鎖化鞭毛）を切断することで、免疫活性化に寄与する。BGAL ファミリーは GH (glycoside hydrolase) ファミリーのうち GH35 や GH2 に分類されることが多い。

#### ※4 免疫原性ペプチド (Immunogenic Peptide)

免疫原性ペプチドとは、MAMPs (Microbe-Associated Molecular Patterns) や DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns) の一部として、宿主の免疫受容体に認識され、パターン認識受容体 (PRR) を介した自然免疫応答を誘導する短鎖ペプチドである。植物免疫では、flg22 (鞭毛タンパク質の 22 アミノ酸配列) などが代表的。

#### ※5 geminal ジオール (Gem-diol)

同一炭素に 2 つの水酸基が結合した構造 ( $R_2C(OH)_2$ ) で、カルボニル化合物の水和体としても知られる。安定な gem-diol 構造はまれだが、特定の環境下や構造要因（例：ピロリジン環の立体保護）により安定化される場合がある。本研究では、glycosyrin の高い水和安定性と立体選択的な結合が、BGAL1 との模倣的相互作用を可能にしている。

#### ※6 エフェクター (Effector)

病原性微生物が宿主細胞に対して分泌する分子で、しばしば Type III secretion system (T3SS) などの分泌系を介して導入される。これらは宿主の免疫反応を抑制し、感染を促進する。植物では、エフェクター認識により ETI (Effector-triggered immunity) を誘導する。

#### ※7 アポプラスト (Apoplast)

植物細胞の細胞壁と細胞間隙からなる細胞外空間を指す。水分や溶質の移動経路としてだけでなく、病原体との初期接触の場として、植物防御において極めて重要な生理的・免疫的フロントラインである。

#### ※8 His タグ (Histidine-tag)

タンパク質精製に用いられるポリヒスチジン配列（通常 6 残基のヒスチジン）で、ニッケルやコバルトと高親和性を持ち、金属キレート樹脂を用いたアフィニティークロマトグラフィーによって標的タンパク質の効率的な精製が可能となる。

#### ※9 クライオ電子顕微鏡 (Cryo-Electron Microscopy, Cryo-EM)

試料を液体エタン等で急速凍結し、非晶質水中に固定した状態で観察する透過型電子顕微鏡法。試料を結晶化する必要がなく、数 Å レベルの高分解能構造解析が可能で

あり、近年の構造生物学研究において不可欠な技術である。

#### ※10 エリシター (Elicitor)

植物が病原体や害虫、あるいは自分自身の損傷を感知するためのきっかけとなる分子。これらの分子は植物の細胞表面にあるセンサー（パターン認識受容体）によって認識され、防御反応（免疫）を引き起こす。このような仕組みは PTI (PAMP-triggered immunity) と呼ばれ、病気への抵抗性の第一段階となる。エリシターには、細菌のフラジェリンや真菌のキチンなどの病原体由来のものと、植物自身の細胞壁の断片などがあり、農業では病害防除や抵抗性の強化に活用されつつある。

#### 【論文詳細】

論文名：

Bacterial pathogen deploys iminosugar glycosyrin to manipulate plant glycobio

著者：

Nattapong Sanguankiattichai<sup>1,2</sup>, Balakumaran Chandrasekar<sup>1</sup>, Yuwen Sheng<sup>3</sup>, Nathan Hardenbrook<sup>4</sup>, Werner W. A. Tabak<sup>5</sup>, Margit Drapal<sup>6</sup>, Farnusch Kaschani<sup>7</sup>, Clemens Grünwald-Gruber<sup>8</sup>, Daniel Krahn<sup>9</sup>, Pierre Buscaill<sup>1</sup>, Suzuka Yamamoto<sup>10</sup>, Atsushi Kato<sup>10</sup>, Robert Nash<sup>11</sup>, George Fleet<sup>12</sup>, Richard Strasser<sup>13</sup>, Paul D. Fraser<sup>6</sup>, Markus Kaiser<sup>5</sup>, Peijun Zhang<sup>3,4</sup>, Gail M. Preston<sup>1</sup>, Renier A. L. van der Hoorn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Oxford, Oxford, UK.

<sup>2</sup>Department of Microbiology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

<sup>3</sup>Diamond Light Source, Harwell Science and Innovation Campus, Didcot, UK.

<sup>4</sup>Division of Structural Biology, Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Oxford, UK.

<sup>5</sup>ZMB Chemical Biology, Faculty of Biology, University of Duisburg-Essen, Essen, Germany.

<sup>6</sup>Department of Biological Sciences, Royal Holloway University of London, Egham, UK.

<sup>7</sup>Analytics Core Facility Essen (ACE), Chemical Biology, Faculty of Biology, Universität Duisburg-Essen, ZMB, Essen, Germany.

<sup>8</sup>Core Facility Mass Spectrometry, BOKU University, Vienna, Austria.

<sup>9</sup>Leibniz Institut für analytische Wissenschaften ISAS e.V., Dortmund, Germany.

<sup>10</sup>Department of Hospital Pharmacy, University of Toyama, Toyama, Japan.

<sup>11</sup>Institute of Biological, Environmental and Rural Sciences/Phytoquest Limited, Aberystwyth, UK.

<sup>12</sup>Chemistry Research Laboratory, Department of Chemistry, University of Oxford, Oxford, UK.

<sup>13</sup>Institute of Plant Biotechnology and Cell Biology, Department of Biotechnology and Food Science, BOKU University, Vienna, Austria.

**掲載誌 :**

Science

DOI: 10.1126/science.adp2433

**【本発表資料のお問い合わせ先】**

富山大学 附属病院薬剤部

薬学部 臨床薬剤学研究室

教授・薬剤部長 加藤 敦

TEL: 076-434-7860

Email: [kato@med.u-toyama.ac.jp](mailto:kato@med.u-toyama.ac.jp)