

デンジャーシグナル認識にもとづく植物の免疫制御

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	西條,雄介 山田,晃嗣
発行元	日本植物病理學會
巻/号	81巻4号
掲載ページ	p. 322-331
発行年月	2015年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



デンジャーシグナル認識にもとづく植物の免疫制御

西條 雄介^{1,2*}・山田 晃嗣^{3*}

ABSTRACT

SAIJO, Y.^{1,2*} and YAMADA, K.³ (2015). Fine control of plant immunity through recognition of danger-associated molecular patterns. Jpn. J. Phytopathol. 81: 322-331.

In nature, plants live with a wide range of microbes that reside on the surface of or within plant tissues. Plants disregard or tolerate these nonpathogenic microbes, but mount inducible defenses when they encounter potentially infectious microbes. The danger hypothesis predicts that a plant can sense and respond to danger/damage-associated molecular patterns (DAMPs) associated with pathogen challenge in addition to the microbe-associated molecular patterns (MAMPs) that are largely shared by all microbes. Here we provide an overview of recent studies on DAMP sensing and signaling in plant immunity. We also introduce our studies pointing to the importance of layered crosstalk between MAMP and DAMP signaling pathways as a critical step in basal resistance and systemic acquired resistance.

(Received June 8, 2015; Accepted June 26, 2015)

Key words: danger/damage-associated molecular patterns (DAMPs), effector-triggered immunity (ETI), microbe-associated molecular patterns (MAMPs), pattern recognition receptors (PRR), pattern-triggered immunity (PTI)

はじめに

植物は、いわゆる抗原抗体反応に代表される獲得免疫や全身をパトロールする免疫に専門化した細胞を持たない。その代わりに、個々の細胞が生来のゲノム上にコードされた一群の免疫センサーに依存して防御応答を誘導する自然免疫のみに依拠している。植物の免疫システムは、互いに関連・依存し合う二つのクラスの免疫センサーが病原体の侵入・感染を認識して防御応答を誘導する二段構えの仕組みになっている (Chisholm *et al.*, 2006; Jones and Dangl, 2006)。自然免疫は動物の免疫システムにおいても重要な役割を担っており、植物免疫に関する研究は、動植物を問わず自然免疫の普遍的な枠組みや制御原理を理解する上で大きく貢献してきている (Ronald and Beutler, 2010)。

植物が微生物を認識して最初に誘導する防御応答はパターン誘導性免疫 (Pattern-triggered immunity: PTI) と呼ば

れる。細胞表面のパターン認識受容体 (PRR) と呼ばれる免疫センサーで、微生物に特有の分子 (Microbe-associated molecular patterns: MAMPs) や植物細胞の破碎成分など内生のダメージ・デンジャーシグナル因子 (Damage/Danger-associated molecular patterns: DAMPs) を察知することで誘導される。PTIは、植物がその種に適応していない病原菌種に対してあらゆる系統の感染を防いで全く宿主とならない抵抗性 (非宿主抵抗性) や、適応型の病原体に対して感染や病徴を最小限に食い止めて被害の拡大を防ぐ抵抗性 (基礎抵抗性) において中心的な役割を果たしている。しかし、宿主に適応した病原体は、エフェクターと総称される、一連の感染促進因子 (タンパク質や毒素) を宿主細胞内に注入してPTIを阻害することで感染を成立させる。これに対して、特定のエフェクター (非病原性因子) に対応する抵抗性遺伝子を有する宿主では、エフェクターの認識に基づき激しい防御応答が誘導されて強く病原体の感染を抑制す

¹ 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 (〒 630-0192 生駒市高山町 8916-5) Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology, Ikoma 630-0192, Japan

² JST さきがけ (同上) JST PRESTO

³ 京都大学大学院農学研究科 (〒 606-8502 京都市左京区北白川追分町) Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan

* Corresponding author (E-mail: saijo@bs.naist.jp, kyamada@kais.kyoto-u.ac.jp)

るエフェクター誘導性免疫 (ETI) が起こる. 次にはエフェクター認識の回避など ETI を克服する病原体系統が出現して再び抵抗性が打破され, 今度はそれに対抗して宿主も新たな ETI システムを進化させる. このような病原体エフェクターと PTI-ETI の共進化 (ジグザグ・モデル) (Chisholm *et al.*, 2006; Jones and Dangl, 2006) の産物として, 植物の免疫システムに多段階の階層的な制御機構が発達したと考えられる.

ETI は, 抵抗性タンパク質が非病原性エフェクターに結合して直接認識する例も知られるものの, エフェクターが宿主に及ぼす作用を間接的に認識する例が大半である (Cui *et al.*, 2015). 病原体 (のエフェクター) による攪乱をトリガーとして強い免疫応答が誘導される例は, 最近になって動物でも報告が相次いでいる (Stuart *et al.*, 2013). また, ETI は往々にして過敏細胞死 (HR) を伴う. しかし HR は ETI の発動と分離できる例が多く知られており, 抵抗性の忠実な指標とするには問題がある (Cui *et al.*, 2015). 現時点で HR は ETI の要因なのか結果なのか議論に結着はついておらず, その生理意義についてはよく分かっていない. 本稿では DAMP の産生・認識という観点からこれらの点についても後述したい.

パターン誘導性免疫

PTI は植物の免疫システムの根幹として働く (ETI も PTI の強化版と解釈できる: Cui *et al.*, 2015). また ETI は, 宿主適応性 (病原性) が非常に高い特定の病原菌系統に対して劇的な抵抗性を発揮するものの, 高温などの環境ストレス条件下において効力が弱まる. そのような状況になっても植物免疫を支えているのは PTI である (Cheng *et al.*, 2013). モデル植物・シロイヌナズナにおける分子遺伝学的研究の進展によって, 近年, 代表的なパターン受容体のシグナル経路における律速因子・律速制御ステップが同定されるにつれ, PTI の分子メカニズムが徐々に明らかになってきている (Boller and Felix, 2009; Macho and Zipfel, 2014). また, もともと植物種に存在していない PRR を別の植物種から導入することによって病原体への抵抗性が獲得された例 (Lacombe *et al.*, 2010) や, 一般に MAMP は微生物の生存に重要で変異が起こりにくく病原体のエスケープ系統が出現しにくいという期待から, 高持続性の耐病性育種に向けて有用なツールとして注目を集めている (Dangl *et al.*, 2013).

植物に認識される代表的な MAMP には, 細菌の鞭毛タンパク質・フラジェリン, 翻訳伸長因子・EF-Tu, ペプチドグリカン, リポ多糖に加えてカビの細胞壁構成成分キチンなどが知られ, これらを特異的に認識する PRR も同定されて

いる (Gómez-Gómez and Boller, 2000; Kaku *et al.*, 2006; Miya *et al.*, 2007; Ranf *et al.*, 2015; Willmann *et al.*, 2011; Zipfel *et al.*, 2006). 動物とは異なり, これまでに同定された植物の PRR は全て膜局在性の受容体であり, 植物に感染する細菌や糸状菌などの微生物が専ら細胞外スペースに侵入・増殖することを反映しているのかもしれない. 中でも, フラジェリンの N 末端の 22 アミノ酸ペプチド (flg22 エピトープ) を認識する FLS2 や EF-Tu の N 末端の 18 アミノ酸アセチル化ペプチド (elf18 エピトープ) を認識する EFR について, 免疫シグナル系の分子遺伝学的・生化学的研究が盛んに行われており, 現在の植物 PTI に関する理解は FLS2・EFR をモデルとする研究に依るところが大きい (Macho and Zipfel, 2014). FLS2 や EFR はともに細胞外にロイシンリッチリピート (Leucine-rich repeat; LRR) を持つ受容体型キナーゼ (receptor kinase; RK) であり, リガンドを認識すると直ちに共受容体として働く LRR-RK, BAK1 と結合して複合体を形成し, リン酸化カスケードに基づくシグナル伝達を開始・制御して PTI に特徴的な一連の免疫応答を誘導する (Chinchilla *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2013). それらは Ca^{2+} パースト, 活性酸素種 (ROS) パースト, 細胞内受容体様キナーゼ (RLCK)・MAPK・ Ca^{2+} 依存性プロテインキナーゼ (CDPK) の活性化, 植物ホルモンであるエチレンやサリチル酸の生成, カロース沈着に加えて遺伝子発現リプログラミングなどと多岐に渡っており, 膜受容体による細胞内シグナル制御という観点においても格好の研究材料となっている. しかし, PRR からのシグナル伝達がどのようにして植物免疫の活性化につながるのかについては未だに不明な点が多い.

さらに, PRR によって認識される MAMP は病原体に限定されず非病原性の共生菌・内生菌にも存在するという事実から, どのようにして宿主は病原体を認識するのかという疑問が生じる. 言い換えると, どのようにして宿主は病原体には選択的に防御応答を誘導する一方で, MAMP を共有する内生菌・共生菌には寛容でいられるかという問題である. この問題に関して, 微生物によく保存された MAMP に加えて微生物の感染に伴う自身の細胞ダメージや細胞ストレス (を示す DAMP) を宿主が認識することで, 病原体と非病原体の識別に役立っているというモデル (デンジャー仮説) が提唱されている (Lazzaro and Rolff, 2011; Stuart *et al.*, 2013). 植物においても内生のエリシター活性を有する DAMP (候補) およびそれらの認識に携わる膜局在性の受容体が次々に同定されてきており, 中には病原体に対する免疫に重要な役割を果たすことが明らかにされた例もある (Yamaguchi and Huffaker, 2011). 一般に, DAMP 受容体も MAMP 受容体と同様に前述の PTI に典型的な一連の免疫応

答をセットで誘導することもあって、「PRRは認識するリガンド(インプット)は異なっているけれども活性化免疫応答(アウトプット)はほぼ共通である」という見解が支持されている。しかし、PRR間にも免疫応答の強度や質、また律速ステップにおいて差異が存在することが明らかとなっており、PRR経路同士が互いに連携・協働することで、PTIを頑健にしている可能性も考えられる。PTIの頑健性については、先にPTIは病原体のエフェクターによって抑制されると述べたが、そのような条件下でもMAMP受容体依存的な基礎抵抗性(Willmann *et al.*, 2011; Zipfel *et al.*, 2004; Zipfel *et al.*, 2006)が働いて病原体の感染を制限していることに留意されたい。著者らは、エフェクターによる攪乱や細胞ダメージの存在下でもMAMPシグナル系によって基礎抵抗性が成立するのは、DAMPシグナル系の寄与するところが大きいと考えている。本稿においては、植物のDAMPやその受容体・シグナル系に関する知見に続いて、MAMP-DAMPシグナル系のクロストークに関する著者らの研究を紹介したい。

ペプチド性 DAMP

近年、植物の生長・分化のシグナル制御に関与する生理活性ペプチドが次々と明らかとなっている。それらの生理活性ペプチドは、前駆体のN末端の分泌シグナルの有無によって、分泌経路を経て細胞外に放出される分泌型ペプチドと細胞質に蓄積する非分泌型ペプチドに大別される。後者は、細胞ダメージ(細胞膜の損傷)により細胞外へ漏出することでDAMPとして働く可能性が考えられる。

1. 非分泌型ペプチド

(a) システミン

傷害誘導性プロテアーゼインヒビターを誘導する因子として、18アミノ酸の生理活性ペプチド・システミンがトマトより単離された(Pearce *et al.*, 1991)。システミンは200アミノ酸からなる前駆体プロシステミンのC末端配列に由来する(McGurl *et al.*, 1992)。システミン処理やプロシステミンを過剰発現させた形質転換植物の解析から、システミンはプロテアーゼインヒビターの誘導のみではなく、多くの防御反応を引き起こすことが示された(Ryan, 2000)。さらにはシステミン処理により、草食性昆虫の天敵を誘引する揮発性物質が産生されることも報告されている(Degenhardt *et al.*, 2010)。プロシステミンは師部柔組織に発現し、分泌シグナルを持たないため細胞内に蓄積する(Narváez-Vásquez *et al.*, 2004)。プロセッシングなどのシステミン成熟過程は明らかになっていないが、傷害時に細胞外へ漏出し防御応答シグナルを活性化させると考えられている。当初は組織間を

移動して非感染葉に全身的な(システミック)防御応答を誘導するシグナル因子であると考えられシステミンと名付けられた。しかし、接ぎ木実験などの結果から、システミンそのものではなく、システミンが感染葉において誘導するジャスモン酸が長距離移行シグナルであるとする説が現在のところ有力である(Li *et al.*, 2002)。また、システミン結合タンパク質としてシロイヌナズナのブラシノステロイド受容体LRR-RK, BRI1と相同性が高いSR160が単離された(Scheer and Ryan, 2002)。しかしその欠損変異体ではブラシノステロイド応答は低下しているもののシステミン応答は維持されており(Holton *et al.*, 2007)、SR160がシステミン受容体に関与するかについては議論が続いている。

(b) Pep

MAMP処理や傷害ストレスを与えた葉の抽出液を懸濁培養細胞に添加すると一過的に培地のアルカリ化(pHの上昇)が起こることが知られている。Pep1ペプチドはシロイヌナズナの培養細胞に対して細胞外pHの上昇を引き起こす内因性ペプチドとして単離された(Huffaker *et al.*, 2006)。23アミノ酸からなるPep1ペプチドはPROPEP1のC末端の配列に相当し、現在シロイヌナズナではPep1と相同のPepエピトープをC末端側に持つ8種のPROPEPが同定されている(Bartels *et al.*, 2013)。PROPEPは、Pepエピトープ以外の配列については相同性が低く、N末端に分泌シグナルを持たずに細胞質内に蓄積する(Bartels *et al.*, 2013)。明らかな膜結合ドメインや膜貫通ドメインも無いものの、GFP融合タンパク質が液胞膜に検出されたPROPEPもある(Bartels *et al.*, 2013)。PROPEPが細胞膜の傷害によって細胞外に放出し、プロセッシングを受けることでC末端のPepエピトープが露出するという活性化モデルについては未だに仮説の域を出ていない。Pepペプチド投与による免疫応答の誘導に必要な受容体としてLRR-RKであるPEPR1およびPEPR2が同定されており、*pepr1 pepr2*二重変異体はPepペプチドに対して非感受性を示す(Krol *et al.*, 2010; Yamaguchi *et al.*, 2006; Yamaguchi *et al.*, 2010)。8種あるPROPEP遺伝子のうち、病原体感染やMAMP処理によって特にPROPEP2およびPROPEP3の発現が強く誘導され、さらにはPepペプチド処理によってもPROPEP2およびPROPEP3が誘導されることから、PEPRシグナル系は自身のリガンドを誘導する自己フィードバックによって免疫シグナルを増幅する作用があると考えられている(Huffaker and Ryan, 2007)。実際、筆者らおよび他のグループの解析により、MAMP誘導性の防御応答関連遺伝子の発現が*pepr1 pepr2*変異体において顕著に低下することが示されており(Ma *et al.*, 2012; Tintor *et al.*, 2013)、PEPR経路がMAMPシグナルを増幅するように働

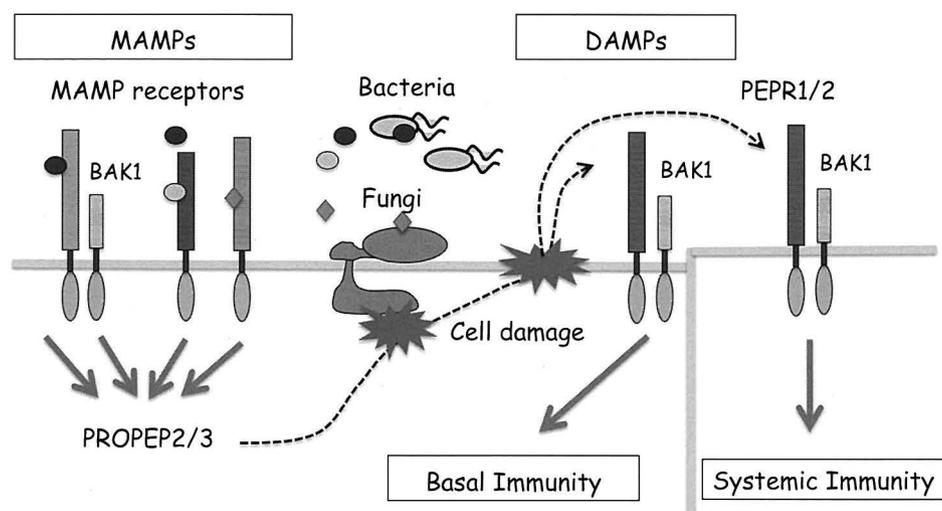


Fig. 1. Layered signaling crosstalk between MAMP- and PEPR-mediated DAMP pathways in Arabidopsis.

Perception of bacterial or fungal MAMPs leads to transcriptional induction of *PROPEP2/PROPEP3*, encoding short-length peptides. *PROPEP2/PROPEP3* are thought to be released into the extracellular space following membrane disintegration by pathogen challenge. Recognition of these DAMPs by PEPR1/PEPR2 in turn amplifies MAMP-triggered signaling to strengthen basal immunity and systemic immunity.

くことを支持している (Fig. 1).

この結果や、局所的な PTI や ETI の活性化は全身獲得抵抗性 (SAR, systemic acquired resistance) につながるという知見 (Mishina and Zeier, 2007) を受けて、筆者らは PEPR シグナル系がシステムック免疫に果たす役割についても検証した。 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) DC3000 AvrRpm1 (非病原性レース) の接種による ETI 活性化や flg22 処理による PTI 活性化の結果、野生型植物ではシステムック葉に免疫応答が誘導される。しかし、*pepr1 pepr2* 欠損植物ではシステムック葉の応答性が低下しており、PEPR シグナル系がシステムック免疫の活性化に重要であることが示された (Ross *et al.*, 2014)。また、Pep ペプチドは直接投与した葉のみならずシステムック葉にも免疫応答を誘導することを示した。ただし、その際 *PROPEP2/3* の発現が Pep 処理した葉では誘導されたがシステムック葉ではされなかった。PEPR シグナル系が働くと *PROPEP2/3* が誘導されることを踏まえると、この結果から *PROPEP* や Pep ペプチド自身が長距離移行性シグナル因子としてシステムック葉で PEPR を活性化する訳ではないと考えられた。むしろ PEPR 経路は主に感染葉において長距離移行シグナルの産生を推進することで SAR に寄与することが示唆され、そのように非感染葉で活性化されていないのであれば細胞ダメージの認識に働くと考えられる仮説とも合致する。以上の結果から ETI により HR が誘導されると *PROPEP* など DAMP (もしくはその前駆体) の産生・放出が促され、それを隣接する周囲の細胞が感知することによって免疫シグナルが拡散・伝播するというモ

デルが考えられた (Fig. 1)。

Pep はシステミンに類似した機能的特性を示すものの、システミンやシステミン様ペプチドはナス科植物に限られるのに対し、*PROPEP* のオルソログ (配列) の存在は高等植物から広く報告されている (Huffaker *et al.*, 2006)。トウモロコシの Pep1 ペプチド (ZmPep1) は 23 アミノ酸の生理活性ペプチドで、シロイヌナズナの Pep1 ペプチド (AtPep1) とのペプチド配列の全体的な相同性は低いものの、機能に重要だとされるグリシン残基は保存されている (Huffaker *et al.*, 2011)。ZmPep1 の前駆体である ZmPROPEP1 は病原体の感染やジャスモン酸で誘導されるだけでなく、ZmPep1 処理によっても誘導されることにより、PEPR 経路の自己フィードバックはトウモロコシにおいても保存されていると考えられる。また ZmPep1 より生理活性の強い Pep ペプチドとして ZmPep3 も同定されており、その投与により、ジャスモン酸や草食性昆虫の天敵を誘引する揮発性物質の産生が誘導され、直接的および間接的な虫害防御応答が発動されることが報告された (Huffaker *et al.*, 2013)。ペプチド配列の相同性が低いためか、各植物種の Pep ペプチド処理の効果はその種の属する科レベルに限定され、ZmPep はイネ科のみ、またダイズの Pep3 ペプチド (GmPep3) はマメ科のみにエリシター活性を示す (Huffaker *et al.*, 2013)。シロイヌナズナ以外で Pep ペプチドの受容体は同定されておらず、受容体とリガンドの結合特異性を決定する機構については今後の解析が待たれる。

2. 分泌型ペプチド

(c) HypSys

システミン様の生理活性因子をタバコで探索した結果、二種類のペプチドが単離された (Pearce *et al.*, 2001). それらのペプチド配列のプロリン残基はヒドロキシル化され、さらには五炭糖による糖修飾を受けていたため、hydroxyproline-rich systemin (HypSys) I および HypSys II と命名された。また HypSys I および HypSys II は同一の前駆体 (proHypSys) の異なる箇所から派生するペプチドであった (Pearce *et al.*, 2001). HypSys のペプチド配列や生理活性はシステミンと似ているが、その前駆体は N 末端に分泌シグナルを持ち、細胞外へ分泌される。前駆体はプロシステミンと同様に師部柔組織に発現し、傷害時に誘導され細胞壁に局在し、プロテアーゼによって切り出されることで HypSys ペプチドが産生されると考えられている (Narváez-Vásquez *et al.*, 2005). HypSys ペプチドはトマトなどの他のナス科植物からも同定されている (Pearce and Ryan, 2003; Pearce *et al.*, 2007). HypSys 処理や *proHypSys* の過剰発現によって、防御応答関連遺伝子やジャスモン酸が誘導され、*proHypSys* 過剰発現植物は食性昆虫への抵抗性が增強することが報告されている (Narváez-Vásquez *et al.*, 2007; Ren and Lu, 2006).

(d) Pip

近年、*in silico* 解析により病害応答依存的に発現が誘導されるシロイヌナズナの低分子量の分泌タンパク質の探索が行われ、新規分泌タンパク質 prePIP1 が同定されその C 末端由来の PIP ペプチドは免疫応答を活性化させることが報告された (Hou *et al.*, 2014). シロイヌナズナには 11 種の *prePIP1* 相同遺伝子を持ち、それらの C 末端の生理活性部位には活性に必須な SGPS 配列が共通して見られる。また、PIP1 ペプチドの 6 番目のプロリン残基をヒドロキシル化したものは、無修飾の PIP1 ペプチドよりも強い活性を発揮した。*prePIP1* および *prePIP2* の過剰発現や PIP1 ペプチドの処理によって防御応答が誘導され、病原細菌および糸状菌への抵抗性が高まることも報告されている。PIP1 ペプチドの受容体として、LRR-RK である RLK7 が単離されている。*rlk7* 変異体では PIP1 ペプチド処理による防御応答関連遺伝子の発現や根の伸長阻害が著しく低下する。さらには、*flg22* 誘導性の防御応答関連遺伝子の発現も減少することにより、PIP1-RLK7 経路が MAMP シグナル系の下流で働いてその免疫シグナルを増幅する働きがあると提唱されている。

3. クリプタイド

生理活性を持つペプチドの中には、元々その生理活性とは異なる機能を持つタンパク質の一部であってその分解から生じるものがあることが近年報告されている。このようなタン

パク質の中に隠れている機能性ペプチドはクリプティック機能ペプチド (cryptic peptide), またはクリプタイド (cryptide) と呼ばれている (Pimenta and Lebrun, 2007). 植物に免疫応答を発動させるエリシター活性をもつペプチドの中にも、近年クリプタイドに分類されるものが報告されている。

(e) インセプチン Inceptin

インセプチンはササゲの葉緑体局在の ATP 合成酵素 γ サブユニット由来のジスルフィド結合を持つ 11-13 アミノ酸のペプチドであり、ツマジロクサヨトウの幼虫の吐き戻し液よりエリシター活性を有するペプチドとして単離された (Schmelz *et al.*, 2006, 2007). 唾液内より検出されたことから、インセプチンはツマジロクサヨトウの摂食行動を介した ATP 合成酵素 γ サブユニットの消化断片であると考えられている。インセプチン処理によって、エチレンやジャスモン酸などの植物ホルモンや、テルペン属の揮発性物質の産生が誘導される (Schmelz *et al.*, 2006). インセプチンの配列はササゲのみならず、多くの植物の ATP 合成酵素 γ サブユニットに保存されているが、そのエリシター活性はマメ科でもササゲ属とインゲンマメ属に特異的であることが報告されており、受容体の同定が待たれる (Schmelz *et al.*, 2009).

(f) GmSubPep

培地のアルカリ化および防御応答関連遺伝子の発現を誘導する内因性エリシターとしてダイズより GmSubPep (Glycine max Subtilase Peptide) が単離された (Pearce *et al.*, 2010). GmSubPep は 11 アミノ酸のペプチドであり、細胞外局在のサブチラーゼ由来である。GmSubPep をコードするサブチラーゼは恒常的に発現しており、植物ホルモン処理や傷害においても誘導が見られない。GmSubPep はジャスモン酸を処理した葉より単離されたエリシターであり、病原微生物の感染や草食昆虫の摂食によってその産生が調節されるかどうかは不明である。

(g) CAPE1

傷害ストレスを与えたトマト葉より、エリシター活性を有する CAPE1 ペプチドが単離された (Chen *et al.*, 2014). CAPE1 は傷害ストレスに加えてジャスモン酸を処理することによりさらに蓄積する。CAPE1 は細胞外局在のキチナーゼ PR-1b タンパク質の C 末端配列由来の 11 アミノ酸からなるペプチドで、その名は PR-1b が CAP (cysteine-rich secretory proteins, antigen 5 and pathogenesis-related 1 proteins) スーパーファミリーに属することによる。CAPE1 処理によりトマト葉において植物ホルモンや防御応答遺伝子の発現が誘導され、病原細菌や草食昆虫に対する抵抗性が上昇した。また、CAPE1 配列は他の植物の PR1 タンパク質にも保存されており、シロイヌナズナの PR1 由来のペプチド、

AtCAPE-PR1 を処理した植物でも病原細菌の増殖が抑えられることが報告されている。

オリゴガラクトツロナイド

細胞壁は病原微生物が植物に感染する際に最初の障壁として機能し、病原微生物には各種細胞壁成分の分解酵素をコードする遺伝子を持つものが多い。細胞壁はセルロースを基本骨格に持ち、その間はマトリックス（ペクチン、セミセルロースなど）により充填されている。結晶性セルロースは強固で分解が困難であるため、病原微生物は分解対象としてゲル状のマトリックスを初めに標的にすると考えられる。ペクチンを構成するホモガラクトツロン酸（HGA, homogalacturonan）の分解の際に生じるオリゴガラクトツロナイド（OG, oligogalacturonide）は ROS・防御応答関連遺伝子・ファイトアレキシンなどを誘導することが知られており、DAMP の一つとして働くことが提唱されている（Ferrari *et al.*, 2013）。エリシター活性を持つ OG は重合度 10-15 であり（Côté and Hahn, 1994）、さらにメチルエステル化していないカルボキシル基が Ca^{2+} 依存的に架橋することでダイマー化し egg box 構造を形成することがエリシター活性には必要であると考えられている（Cabrerá *et al.*, 2008; Braccini and Pérez, 2001）。病原感染時には植物は病原体のペクチン分解酵素を阻害するタンパク質（PGIP, polygalacturonase-inhibitor protein）を分泌する。PGIP は、病原体による HGA 分解の抑制のみではなく、エリシター活性に必要な OG の重合度を保つ役割があると考えられている（De Lorenzo and Ferrari, 2002）。さらに近年、病原体感染時に OG の脱メチルエステル化酵素（PME, pectin methylesterase）の活性が高まること、またシロイヌナズナの PME 遺伝子の欠失変異体は病原細菌および糸状菌への抵抗性が弱まることが報告された（Bethke *et al.*, 2014）。脱メチルエステル化は OG の egg box 形成を促進するため、植物は PME 活性の調節を介して活性化型 OG の産生を制御しているのかもしれない（Bethke *et al.*, 2014）。

OG の受容体候補として WAK (wall-associated kinase) が挙げられている（Kohorn and Kohorn, 2012）。WAK は細胞外領域に EGF (epidermal growth factor) モチーフを持ち、細胞内領域にはセリン/スレオニンキナーゼドメインを持つ。その細胞外領域の EGF モチーフとは異なる領域にペクチン結合領域があり、脱メチルエステル化した重合度 9 以上の OG や HGA と Ca^{2+} 依存的に結合する（Cabrerá *et al.*, 2008; Decreux and Messiaen, 2005）。WAK はシロイヌナズナの第一染色体に 5 つの相同遺伝子がクラスターを形成しており、また 21 の WAK 様遺伝子（WAKL, WAK-like）の存在も報告されている（Verica *et al.*, 2003）。これら相同遺伝子のクラ

スター化および機能重複性により WAK の OG への応答性への関与を遺伝学的に解析することは難しい。しかし *wak2* 変異体は OG 誘導性の液胞局在インペルターゼの発現が減少することや（Kohorn *et al.*, 2006, 2009）、WAK1 の細胞外領域を EFR の細胞質領域に結合させたキメラタンパク質が OG 依存的に EFR シグナルを発動させることから WAK が OG 応答に関与すると考えられている（Brutus *et al.*, 2010）。

細胞外 ATP

細胞外の ATP 濃度は機械刺激や MAMP 処理によって増加することが報告されている（Tanaka *et al.*, 2014）。また ATP 処理によって MAPK 活性化や傷害誘導性遺伝子の誘導が見られることより、細胞外 ATP は DAMP として働くと考えられている。近年、細胞外 ATP を認識する受容体型キナーゼとして DORN1 が単離された（Choi *et al.*, 2014）。*dorn1* 変異体および DORN1 過剰発現体はそれぞれ ATP に非感受性および高感受性を示すのみならず、傷害ストレス下における遺伝子発現も減少および増加が見られた。このことは DAMP として細胞外 ATP が傷害ストレス応答に関与していることを支持している（Choi *et al.*, 2014）。DORN1 が実際に病虫害応答にどのような役割を果たしているかについては今後の解析が待たれる。

免疫応答以外の DAMP の役割

MAMP とは異なり、DAMP は内因性因子であるため、免疫応答以外の役割も持つことが考えられる。Pep ペプチドの前駆体である PROPEP は病原体感染時以外にも発現するものがあり、PROPEP1 過剰発現体はシロイヌナズナの生育を促進することが報告されている（Huffaker *et al.*, 2006）。また免疫応答以外の効果として、Pep 処理は暗所誘導性の老化を早めることが近年報告された（Gully *et al.*, 2015）。この老化促進効果は *flg22* や *elf18* 処理では確認することができないため PEPR に特異的なものだと主張されている。一方、FLS2 の発現が暗所で著しく低下しているとの報告もある（Henty-Ridilla *et al.*, 2014）。

また植物の成長に伴い細胞壁の分解・再構成が起きた際にペクチン断片が産生され、OG シグナル経路が活性化することが推察される（Wolf *et al.*, 2009）。WAK 遺伝子をノックダウンしたシロイヌナズナは矮化し、細胞サイズの縮小が見られるため WAK を介したシグナルは細胞伸長にも関係すると考えられている（Lally *et al.*, 2001）。またトマトの実の成熟にはエチレンが関与するが、興味深いことにトマトにエチレンを誘導する OG の重合度は免疫応答を発動する 10-15 ではなく 4-6 であった（Simpson *et al.*, 1998）。また、

OGはオーキシンの生理活性を阻害する働きを持つことが報告されているが、その抑制機構は不明な点が多い (Ferrari *et al.*, 2013). DAMPの生理機能の全貌を掴むためにも免疫応答以外の場面での役割を知ることが重要であり、研究の発展が期待される。

MAMP・DAMPのシグナルクロストーク

上述したように、*pepr1 pepr2* 変異体や *rlk7* 変異体において MAMP による防御応答関連遺伝子の発現誘導が低下するなど、MAMP 受容体と DAMP 受容体が重層的に働くとするモデルを支持する知見が得られている (Hou *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2012; Tintor *et al.*, 2013). 一方、MAMP と DAMP を同時に処理しても相加・相乗効果が確認できないケースもあり (Krol *et al.*, 2010), どのように DAMP シグナル系が PTI に貢献しているかについては不明な点が多い。

近年、MAMP と DAMP を異なるタイミングで認識することにより免疫応答が増強されることを示唆する知見が集まりつつある。Pep1 によって誘導される ROS の産生は *flg22* や *elf18* 誘導性のものに比べて非常に弱い。しかし、*flg22* や *elf18* を前処理することにより Pep1 誘導性の ROS 産生が著しく増加することが報告された (Flury *et al.*, 2013). 興味深いことに、Pep1 の前処理では *flg22*・*elf18* 誘導性 ROS の増加は見られず、MAMP-DAMP の順に処理することが相乗効果に必要であった。この結果は、MAMP を介した微生物の認識に続いて DAMP を介した細胞ダメージの認識により病原体の存在を察知し、強力な免疫応答が誘導されるというデンジャー仮説を支持している。また細菌由来の MAMP だけではなく、糸状菌由来の MAMP であるキチンの前処理によっても同様に Pep 応答が増幅された (Klauser *et al.*, 2013). キチンの受容体 OsCEBiP や CERK1・LYK5 は細胞外領域にリシンモチーフ (LysM, lysine motif) を持つ PRR であり (Cao *et al.*, 2014; Iizasa *et al.*, 2010; Kaku *et al.*, 2006; Miya *et al.*, 2007; Petutschnig *et al.*, 2010), 共受容体 BAK1 をキチン応答に必要としない。MAMP 前処理が Pep1 誘導性の ROS 産生を増強する機構は不明であるが、二つの主要な PRR ファミリー (LRR 型と LysM 型) に共通で観られることは意義深い。しかし *flg22* 前処理による Pep1 応答の増強は遺伝子発現・MAPK 活性化・エチレン産生などでは見られず、植物免疫における意義についてはさらなる解析が待たれる。

おわりに

植物の PTI に関するパラダイムは、シロイヌナズナの FLS2・EFR シグナル系において得られた知見に大きく依拠しているのは事実であり、その普遍性の検証は他の PRR 系

(が支配的に働く植物・微生物相互作用)の研究の進展を待たねばならない。様々な植物病理学研究的系において「いわゆる PTI の効果」が顕著でない場合でも、「PTI は弱い」のではなく、そこで働く PTI の様式がユニークな可能性を考慮に入れるべきである。DAMP シグナル系によるバックアップが PTI を頑強にしていること、並びに病原体が異なれば DAMP シグナル系の貢献度も異なること (著者ら、未発表) を踏まえると、DAMP シグナル系が病原体の感染戦略に応じて PTI の強度のみならず方向性を適切にリプログラミングする役割を担っている可能性も十分考えられる。

これまでに植物で同定された DAMP の例がまだ乏しく、植物の免疫や環境ストレス応答など広く生体防御における DAMP シグナル系の生理意義やその制御機構に関して不明な点が多い。細胞損傷で放出されるエリクター因子や細胞破碎成分のみならず、病原体感染や細胞ストレスによって起こるホメオスタシスの異常も DAMP として働くことが予想される。また、免疫システムが正常に働き病原体の感染を制御できていれば、通常は過度の防御応答の活性化を防ぐ仕組みが同時に働く。しかし、そうでない場合、後者のブレーキが解除されて DAMP 産生ひいては免疫応答の増幅につながるというシナリオが考えられる。実際に、シロイヌナズナにおいて、PTI シグナル系の重要な構成因子である BAK1, BIK1, NADPH オキシダーゼ RbohD, MPK4, カロース合成酵素 PMR4 (GSL5) を欠損した植物では、基礎抵抗性がむしろ高まることが知られている (Kadota *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2005; Laluk *et al.*, 2011; Nishimura *et al.*, 2003; Roux *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2012). 一方、これらの変異体植物では、エフェクターを欠く弱毒性の病原菌株に対する抵抗性 (MAMP 誘導性免疫) は低下している。したがって、エフェクターによる PTI シグナル系の攪乱を認識して強い防御応答を発動するという、ETI (エフェクターの作用を間接的に認識する場合) に類似のロジックが働くことで基礎抵抗性の増強に至ると推察される。実際、MPK4 欠損時に SA 依存的な防御応答の活性化に導く nucleotide-binding (NB)-LRR (NLR) タンパク質 SUMM2 が同定されており (Zhang *et al.*, 2012), 上記の PTI シグナル因子が抵抗性タンパク質によってガードされている可能性が考えられる。しかしながら、病原体の特定のエフェクターが基礎抵抗性の発動に要求されるわけではないため、「遺伝子対遺伝子モデル」に象徴される典型的な ETI のものとは異なるエフェクター認識メカニズムが働いていることも予想される。PTI シグナル機能の低下時に基礎抵抗性を維持・発動する仕組みの研究から、植物免疫において重要な DAMP の発見が続くことが期待される。

謝 辞

本稿で紹介した著者らの研究は、主にマックスプランク植物育種学研究所（ドイツ・ケルン市）植物微生物相互作用研究科および奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科において行いました。特に、ドイツ・マックスプランク研究所ディレクター・Paul Schulze-Lefert 博士、同グループリーダー・津田賢一博士、ドイツ・チュービンゲン大学教授・Thorsten Nürnberger 博士、京都大学准教授・高野義孝博士、奈良先端科学技術大学院大学助教・晝間敬博士のご協力、並びに同バイオサイエンス研究科の諸氏による本研究室への様々なご支援に感謝いたします。また、著者らの研究の一部は、ドイツ・マックスプランク研究所並びにドイツ学術研究会、JST さきがけ、日本学術振興会科学研究費住友財団 基礎科学研究助成の補助を受けて行いました。

引用文献

- Bartels, S., Lori, M., Mbengue, M., van Verk, M., Klauser, D., Hander, T., Böni, R., Robatzek, S. and Boller, T. (2013). The family of Peps and their precursors in *Arabidopsis*: differential expression and localization but similar induction of pattern-triggered immune responses. *J. Exp. Bot.* 64: 5309–5321.
- Bethke, G., Grundman, R.E., Sreekanta, S., Truman, W., Katagiri, F. and Glazebrook, J. (2014). *Arabidopsis* PECTIN METHYLESTERASEs contribute to immunity against *Pseudomonas syringae*. *Plant Physiol.* 164: 1093–1107.
- Boller, T. and Felix, G. (2009). A Renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60: 379–406.
- Braccini, I. and Pérez, S. (2001). Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules* 2: 1089–1096.
- Brutus, A., Sicilia, F., Macone, A., Cervone, F. and De Lorenzo, G. (2010). A domain swap approach reveals a role of the plant wall-associated kinase 1 (WAK1) as a receptor of oligogalacturonides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 9452–9457.
- Cabrera, J.C., Boland, A., Messiaen, J., Cambier, P. and Van Cutsem, P. (2008). Egg box conformation of oligogalacturonides: the time-dependent stabilization of the elicitor-active conformation increases its biological activity. *Glycobiology* 18: 473–482.
- Cao, Y., Liang, Y., Tanaka, K., Nguyen, C.T., Jedrzejczak, R.P., Joachimiak, A. and Stacey, G. (2014). The kinase LYK5 is a major chitin receptor in *Arabidopsis* and forms a chitin-induced complex with related kinase CERK1. *Elife* 3: e03766.
- Chen, Y.-L., Lee, C.-Y., Cheng, K.-T., Chang, W.-H., Huang, R.-N., Nam, H.G. and Chen, Y.-R. (2014). Quantitative peptidomics study reveals that a wound-induced peptide from PR-1 regulates immune signaling in tomato. *Plant Cell* 26: 4135–4148.
- Cheng, C., Gao, X., Feng, B., Sheen, J., Shan, L. and He, P. (2013). Plant immune response to pathogens differs with changing temperatures. *Nat. Commun.* 4: 2530.
- Chisholm, S.T., Coaker, G., Day, B. and Staskawicz, B.J. (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124: 803–814.
- Chinchilla, D., Zipfel, C., Robatzek, S., Kemmerling, B., Nürnberger, T., Jones, J.D.G., Felix, G. and Boller, T. (2007). A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 448: 497–500.
- Choi, J., Tanaka, K., Cao, Y., Qi, Y., Qiu, J., Liang, Y., Lee, S.Y. and Stacey, G. (2014). Identification of a plant receptor for extracellular ATP. *Science* 343: 290–294.
- Côté, F. and Hahn, M.G. (1994). Oligosaccharins: structures and signal transduction. *Plant Mol. Biol.* 26: 1379–1411.
- Cui, H., Tsuda, K. and Parker, J.E. (2015). Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. *Annu. Rev. Plant Biol.* 66: 487–511.
- Dangl, J.L., Horvath, D.M. and Staskawicz, B.J. (2013). Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* 341: 746–751.
- De Lorenzo, G. and Ferrari, S. (2002). Polygalacturonase-inhibiting proteins in defense against phytopathogenic fungi. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 295–299.
- Decreux, A. and Messiaen, J. (2005). Wall-associated kinase WAK1 interacts with cell wall pectins in a calcium-induced conformation. *Plant Cell Physiol.* 46: 268–278.
- Degenhardt, D.C., Refi-Hind, S., Stratmann, J.W. and Lincoln, D.E. (2010). Systemin and jasmonic acid regulate constitutive and herbivore-induced systemic volatile emissions in tomato, *Solanum lycopersicum*. *Phytochemistry* 71: 2024–2037.
- Ferrari, S., Savatin, D.V., Sicilia, F., Gramegna, G., Cervone, F. and De Lorenzo, G. (2013). Oligogalacturonides: plant damage-associated molecular patterns and regulators of growth and development. *Front. Plant Sci.* 4: 49.
- Flury, P., Klauser, D., Schulze, B., Boller, T. and Bartels, S. (2013). The anticipation of danger: microbe-associated molecular pattern perception enhances AtPep-triggered oxidative burst. *Plant Physiol.* 161: 2023–2035.
- Gómez-Gómez, L. and Boller, T. (2000). FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol. Cell* 5: 1003–1011.
- Gully, K., Hander, T., Boller, T. and Bartels, S. (2015). Perception of *Arabidopsis* AtPep peptides, but not bacterial elicitors, accelerates starvation-induced senescence. *Front. Plant Sci.* 6: 14.
- Holton, N., Caño-Delgado, A., Harrison, K., Montoya, T., Chory, J. and Bishop, G.J. (2007). Tomato BRASSINOSTEROID INSENSITIVE1 is required for systemin-induced root elongation in *Solanum pimpinellifolium* but is not essential for wound signaling. *Plant Cell* 19: 1709–1717.
- Hou, S., Wang, X., Chen, D., Yang, X., Wang, M., Turrà, D., Di Pietro, A. and Zhang, W. (2014). The secreted peptide PIP1 amplifies immunity through receptor-like kinase 7. *PLoS Pathog.* 10: e1004331.
- Henty-Ridilla, J.L., Li, J., Day, B. and Staiger, C.J. (2014). ACTIN DEPOLYMERIZING FACTOR4 regulates actin dynamics during innate immune signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 26: 340–352.
- Huffaker, A., Pearce, G. and Ryan, C.A. (2006). An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the

- innate immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 10098–10103.
- Huffaker, A. and Ryan, C.A. (2007). Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 10732–10736.
- Huffaker, A., Dafoe, N.J. and Schmelz, E.A. (2011). ZmPep1, an ortholog of *Arabidopsis* elicitor peptide 1, regulates maize innate immunity and enhances disease resistance. *Plant Physiol.* 155: 1325–1338.
- Huffaker, A., Pearce, G., Veyrat, N., Erb, M., Turlings, T.C.J., Sartor, R., Shen, Z., Briggs, S.P., Vaughan, M.M., Alborn, H.T., Teal, P.E.A. and Schmelz, E.A. (2013). Plant elicitor peptides are conserved signals regulating direct and indirect antiherbivore defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 5707–5712.
- Iizasa, E., Mitsutomi, M. and Nagano, Y. (2010). Direct binding of a plant LysM receptor-like kinase, LysM RLK1/CERK1, to chitin in vitro. *J. Biol. Chem.* 285: 2996–3004.
- Jones, J.D.G. and Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature* 444: 323–329.
- Kadota, Y., Sklenar, J., Derbyshire, P., Stransfeld, L., Asai, S., Ntoukakis, V., Jones, J.D.G., Shirasu, K., Menke, F., Jones, A. and Zipfel, C. (2014). Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity. *Mol. Cell* 54: 43–55.
- Kaku, H., Nishizawa, Y., Ishii-Minami, N., Akimoto-Tomiya, C., Dohmae, N., Takio, K., Minami, E. and Shibuya, N. (2006). Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 11086–11091.
- Kim, M.G., da Cunha, L., McFall, A.J., Belkadir, Y., DebRoy, S., Dangl, J.L. and Mackey, D. (2005). Two *Pseudomonas syringae* type III effectors inhibit RIN4-regulated basal defense in *Arabidopsis*. *Cell* 121: 749–759.
- Klauser, D., Flury, P., Boller, T. and Bartels, S. (2013). Several MAMPs, including chitin fragments, enhance AtPep-triggered oxidative burst independently of wounding. *Plant Signal. Behav.* 8: e25346.
- Kohorn, B.D., Kobayashi, M., Johansen, S., Riese J., Huang, L.F., Koch, K., Fu, S., Dotson, A. and Byers, N. (2006). An *Arabidopsis* cell wall-associated kinase required for invertase activity and cell growth. *Plant J.* 46: 307–316.
- Kohorn, B.D., Johansen, S., Shishido, A., Todorova, T., Martinez, R., Defeo, E. and Obregon, P. (2009). Pectin activation of MAP kinase and gene expression is WAK2 dependent. *Plant J.* 60: 974–982.
- Kohorn, B.D. and Kohorn, S.L. (2012). The cell wall-associated kinases, WAKs, as pectin receptors. *Front. Plant Sci.* 3: 88.
- Krol, E., Mentzel, T., Chinchilla, D., Boller, T., Felix, G., Kemmerling, B., Postel, S., Arents, M., Jeworutzki, E., Al-Rasheid, K.A.S., Becker, D. and Hedrich, R. (2010). Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. *J. Biol. Chem.* 285: 13471–13479.
- Lacombe, S., Rougon-Cardoso, A., Sherwood, E., Peeters, N., Dahlbeck, D., van Esse, H.P., Smoker, M., Rallapalli, G., Thomma, B.P.H.J., Staskawicz, B., *et al.* (2010). Interfamily transfer of a plant pattern-recognition receptor confers broad spectrum bacterial resistance. *Nat. Biotechnol.* 28: 365–394.
- Lally, D., Ingmire, P., Tong, H.Y. and He, Z.H. (2001). Antisense expression of a cell wall-associated protein kinase, WAK4, inhibits cell elongation and alters morphology. *Plant Cell* 13: 1317–1331.
- Laluk, K., Luo, H., Chai, M., Dhawan, R., Lai, Z. and Mengiste, T. (2011). Biochemical and genetic requirements for function of the immune response regulator BOTRYTIS-INDUCED KINASE1 in plant growth, ethylene signaling, and PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23: 2831–2849.
- Lazzaro, B.P. and Roff, J. (2011). Danger, microbes, and homeostasis. *Science* 332: 43–44.
- Li, L., Li, C., Lee, G.I. and Howe, G.A. (2002). Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 6416–6421.
- Ma, Y., Walker, R.K., Zhao, Y. and Berkowitz, G.A. (2012). Linking ligand perception by PEPR pattern recognition receptors to cytosolic Ca²⁺ elevation and downstream immune signaling in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 19852–19857.
- Macho, A.P. and Zipfel, C. (2014). Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Mol. Cell* 54: 263–272.
- McGurl, B., Pearce, G., Orozco-Cárdenas, M.L. and Ryan, C.A. (1992). Structure, expression, and antisense inhibition of the systemin precursor gene. *Science* 255: 1570–1573.
- Mishina, T.E. and Zeier, J. (2007). Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant J.* 50: 500–513.
- Miya, A., Albert, P., Shinya, T., Desaki, Y., Ichimura, K., Shirasu, K., Narusaka, Y., Kawakami, N., Kaku, H. and Shibuya, N. (2007). CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 19613–19618.
- Narváez-Vásquez, J. and Ryan, C.A. (2004). The cellular localization of prosystemin: a functional role for phloem parenchyma in systemic wound signaling. *Planta* 218: 360–369.
- Narváez-Vásquez, J., Pearce, G. and Ryan, C.A. (2005). The plant cell wall matrix harbors a precursor of defense signaling peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 12974–12977.
- Narváez-Vásquez, J., Orozco-Cárdenas, M.L. and Ryan, C.A. (2007). Systemic wound signaling in tomato leaves is cooperatively regulated by systemin and hydroxyproline-rich glycopeptide signals. *Plant Mol. Biol.* 65: 711–718.
- Nishimura, M.T., Stein, M., Hou, B.H., Vogel, J.P., Edwards, H. and Somerville, S.C. (2003). Loss of a callose synthase results in salicylic acid-dependent disease resistance. *Science* 301: 969–972.
- Pearce, G., Strydom, D., Johnson, S. and Ryan, C.A. (1991). A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science* 253: 895–897.
- Pearce, G., Moura, D.S., Stratmann, J. and Ryan, C.A. (2001). Production of multiple plant hormones from a single polyprotein precursor. *Nature* 411: 817–820.
- Pearce, G. and Ryan, C.A. (2003). Systemic signaling in tomato plants for defense against herbivores – Isolation and characterization of three novel defense-signaling glycopeptide hormones coded in a single precursor gene. *J. Biol. Chem.* 278: 30044–30050.

- Pearce, G., Siems, W.F., Bhattacharya, R., Chen, Y.-C. and Ryan, C.A. (2007). Three hydroxyproline-rich glycopeptides derived from a single petunia polyprotein precursor activate *defensin I*, a pathogen defense response gene. *J. Biol. Chem.* 282: 17777–17784.
- Pearce, G., Yamaguchi, Y., Barona, G. and Ryan, C.A. (2010). A subtilisin-like protein from soybean contains an embedded, cryptic signal that activates defense-related genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 14921–14925.
- Petutshunig, E.K., Jones, A.M., Serazetdinova, L., Lipka, U. and Lipka, V. (2010). The lysine motif receptor-like kinase (LysM-RLK) CERK1 is a major chitin-binding protein in *Arabidopsis thaliana* and subject to chitin-induced phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 285: 28092–28911.
- Pimenta, D.C. and Lebrun, I. (2007). Cryptides: buried secrets in proteins. *Peptides* 28: 2403–2410.
- Ranf, S., Gisch, N., Schäffer, M., Illig, T., Westphal, L., Knirel, Y.A., Sánchez-Carballo, P.M., Zähringer, U., Hüchelhoven, R., Lee, J. and Scheel, D. (2015). A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Immunol.* 16: 426–433.
- Ren, F. and Lu, Y.-T. (2006). Overexpression of tobacco hydroxyproline-rich glycopeptide systemin precursor A gene in transgenic tobacco enhances resistance against *Helicoverpa armigera* larvae. *Plant Sci.* 171: 286–292.
- Ronald, P.C. and Beutler, B. (2010). Plant and animal sensors of conserved microbial signatures. *Science* 330: 1061–1064.
- Ross, A., Yamada, K., Hiruma, K., Yamashita-Yamada, M., Lu X., Takano, Y., Tsuda, K. and Saijo, Y. (2014). The Arabidopsis PEPR pathway couples local and systemic plant immunity. *EMBO J.* 33: 62–75.
- Roux, M.E., Rasmussen, M.W., Palma, K., Lolle, S., Regué, À., Bethke, G., Glazebrook, J., Zhang, W., Sieburth, L., Larsen, M.R., *et al.* (2015). The mRNA decay factor PAT1 functions in a pathway including MAP kinase 4 and immune receptor SUMM2. *EMBO J.* 34: 593–608.
- Ryan, C.A. (2000). The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochim. Biophys. Acta* 1477: 112–121.
- Scheer, J.M. and Ryan, C.A. (2002). The systemin receptor SR160 from *Lycopersicon peruvianum* is a member of the LRR receptor kinase family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 9585–9590.
- Schmelz, E.A., Carroll, M.J., LeClere, S., Phipps, S.M., Meredith, J., Chourey, P.S., Alborn, H.T. and Teal, P.E.A. (2006). Fragments of ATP synthase mediate plant perception of insect attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 8894–8899.
- Schmelz, E.A., LeClere, S., Carroll, M.J., Alborn, H.T., Teal, P.E.A. (2007). Cowpea chloroplastic ATP synthase is the source of multiple plant defense elicitors during insect herbivory. *Plant Physiol.* 144: 793–805.
- Schmelz, E.A., Engelberth, J., Alborn, H.T., Tumlinson, J.H. III. and Teal, P.E.A. (2009). Phytohormone-based activity mapping of insect herbivore-produced elicitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 653–657.
- Simpson, S.D., Ashford, D.A., Harvey, D.J. and Bowles, D.J. (1998). Short chain oligogalacturonides induce ethylene production and expression of the gene encoding aminocyclopropane 1-carboxylic acid oxidase in tomato plants. *Glycobiology* 8: 579–583.
- Stuart, L.M., Paquette, N. and Boyer, L. (2013). Effector-triggered versus pattern-triggered immunity: how animals sense pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 13: 199–206.
- Sun, Y.D., Li, L., Macho, A.P., Han, Z.F., Hu, Z.H., Zipfel, C., Zhou, J.M. and Chai, J.J. (2013). Structural basis for flg22-induced activation of the Arabidopsis FLS2-BAK1 immune complex. *Science* 342: 624–628.
- Tanaka, K., Choi, J., Cao, Y. and Stacey, G. (2014). Extracellular ATP acts as a damage-associated molecular pattern (DAMP) signal in plants. *Front. Plant Sci.* 5: 446.
- Tintor, N., Ross, A., Kanehara, K., Yamada, K., Fan, L., Kemmerling, B., Nüernberger, T., Tsuda, K. and Saijo, Y. (2013). Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 6211–6216.
- Verica, J.A., Chae, L., Tong, H., Ingmire, P. and He, Z.-H. (2003). Tissue-specific and developmentally regulated expression of a cluster of tandemly arrayed cell wall-associated kinase-like kinase genes in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 133: 1732–1746.
- Willmann, R., Lajunen, H.M., Erbs, G., Newman, M.-A., Kolb, D., Tsuda, K., Katagiri, F., Fliegmann, J., Bono, J.-J., Cullimore, J.V., Jehle, A.K., Göetz, F., Kulik, A., Molinaro, A., Lipka, V., Gust, A.A. and Nüernberger, T. (2011). *Arabidopsis* lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 19824–19829.
- Wolf, S., Mouille, G. and Pelloux, J. (2009). Homogalacturonan methyl-esterification and plant development. *Mol. Plant* 2: 851–860.
- Yamaguchi, Y., Pearce, G. and Ryan, C.A. (2006). The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in *Arabidopsis*, is functional in transgenic tobacco cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 10104–10109.
- Yamaguchi, Y., Huffaker, A., Bryan, A.C., Tax, F.E. and Ryan, C.A. (2010). PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 508–522.
- Yamaguchi, Y. and Huffaker, A. (2011). Endogenous peptide elicitors in higher plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14: 351–357.
- Zhang, J., Li, W., Xiang, T., Liu, Z., Laluk, K., Ding, X., Zou, Y., Gao, M., Zhang, X., Chen, S., *et al.* (2010). Receptor-like cytoplasmic kinases integrate signaling from multiple plant immune receptors and are targeted by a *Pseudomonas syringae* effector. *Cell Host Microbe* 7: 290–301.
- Zhang, Z., Wu, Y., Gao, M., Zhang, J., Kong, Q., Liu, Y., Ba, H., Zhou, J. and Zhang, Y. (2012). Disruption of PAMP-induced MAP kinase cascade by a *Pseudomonas syringae* effector activates plant immunity mediated by the NB-LRR protein SUMM2. *Cell Host Microbe* 11: 253–263.
- Zipfel, C., Robatzek, S., Navarro, L., Oakeley, E.J., Jones, J.D.G., Felix, G. and Boller, T. (2004). Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception. *Nature* 428: 764–767.
- Zipfel, C., Kunze, G., Chinchilla, D., Caniard, A., Jones, J.D.G., Boller, T. and Felix, G. (2006). Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell* 125: 749–760.