学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名: 宇治 雄也

Name

学位論文題目: イネ病害抵抗性誘導時に重要なジャスモン酸シグナル伝達

Title of Dissertation 機構の解明

学位論文要旨:

Dissertation Abstract

近年、植物ホルモンの一つであるジャスモン酸(JA)のシグナルが、植物病害抵 抗性において重要な役割を担っていることが明らかとなっているが、イネにおけ る詳細なJAシグナル伝達機構は未知な部分が多かった。そこで当研究室ではイネ の重要病害であるイネ白葉枯病をモデルに研究が進められている。これまでに、 転写因子に結合し、JAシグナルを負に制御するJasmonate-Zim-Domain (JAZ) タ ンパク質であるOsJAZ8が、JA誘導性のイネ白葉枯病抵抗性機構に重要であるこ とが明らかとなった。しかしながら、OsJAZ8によって制御される転写因子やその 転写因子が制御する下流のシグナル伝達機構は未解明であった。そこで本研究で は、OsJAZタンパク質によって制御される二つの転写因子について詳細な解析を 進めている。一つ目に、OsJAZ8と直接相互作用する転写因子OsMYC2に着目し、 JA誘導性のイネ白葉枯病抵抗性及び老化現象においてOsMYC2がどのような機 能を有しているかを解明した。二つ目に、MYB型転写因子であるJMTF1に着目し た。JMTF1は、遺伝子発現レベルでOsJAZ8の制御下にあることが明らかとなっ ているが、イネ白葉枯病抵抗性においては機能未知である。そこで、イネ白葉枯 病抵抗性においてJMTF1がどのようなシグナルを制御し、寄与しているかを解明 した。

I:OsMYC2のJA誘導性イネ白葉枯病抵抗機構及び老化現象における役割

OsMYC2 はイネに存在する 15 個の OsJAZ のうち、OsJAZ14 以外の全ての OsJAZ と結合することが明らかとなった。また、OsMYC2 過剰発現イネは、JAに対して高感受性の表現型を示し、イネ白葉枯病に対する抵抗性が強化された。 また、この過剰発現イネでは JA 早期応答性の抵抗性関連遺伝子及び OsJAZ10の 発現が顕著に誘導されていた。そこでそれら遺伝子のプロモーターを標的とした ${
m ChIP\mbox{-}qPCR}$ 解析を行った結果、 ${
m OsMYC2}$ は特定の遺伝子の ${
m G\mbox{-}box\mbox{-}like}$ モチーフ を認識することが明らかとなった。以上のことから、OsMYC2 は JA シグナルの ポジティブレギュレーターとして機能し JA 早期誘導性のイネ白葉枯病抵抗機構 において重要な転写因子であることが明らかとなった。OsMYC2 は上記の解析時 において、JA 処理条件下で葉の黄化現象を促進することが明らかとなった。そこ で、暗所において誘導される老化現象に OsMYC2 が関与するかを明らかにするた め、dark-induced senescence解析を行った結果、OsMYC2過剰発現イネでは暗 条件下でのクロロフィル分解が促進され、老化が促進することが明らかとなった。 そこで OsMYC2 過剰発現体における老化関連遺伝子(SAG 遺伝子)の発現挙動を調 べたところ、いくつかの SAG 遺伝子の恒常的な発現誘導が認められた。さらに、 OsSAG12 遺伝子のプロモーターの G-box に OsMYC2 が結合することが明らかと なった。以上のことから、OsMYC2 は老化作用を正に制御する転写因子であるこ

とが明らかとなった。

II: JMTF1 の JA 誘導性イネ白葉枯病抵抗機構における役割

 $\mathit{JMTF1}$ を過剰発現させたイネは、 JA 高感受性を示したことから $\mathsf{JMTF1}$ は JA シグナルの正の制御因子であることが明らかとなった。さらに、この過剰発現イネはイネ白葉枯病抵抗性が強化されることも明らかとなった。次に、JA 誘導性 PR 遺伝子の発現挙動を調べたところ、JMTF1過剰発現イネにおいてリグニン合成に 関与する peroxidase (Prx)をコードする OsPrx26の顕著な発現誘導が認められた。 そこで OsPrx26 プロモーターを標的とした ChIP-qPCR 解析を行った結果、 JMTF1 は OsPrx26プロモーター上の特定の cis-element を認識することが明らかとなった。また、興味深いことに JMTF1 過剰発現イネにおいて揮発性テルペン合 成酵素遺伝子である OsTPS24の発現が顕著に誘導され、OsTPS24の合成産物で、 イネ白葉枯病菌に対して抗菌活性を有する y-terpinene が高蓄積していることが 明らかとなった。以上のことから、JMTF1 は OsPrx26 及び OsTPS24 の発現を制 御することによりリグニン合成及び y-terpinene 合成に関与し、イネ白葉枯病抵抗 機構に寄与する可能性が示された。さらに興味深いことに、JMTF1 過剰発現イネ は、これまでに報告されているオーキシン非感受性イネの表現型と酷似している ことが明らかとなった。そこで、JMTF1過剰発現イネの重力屈性を調べたところ、 重力屈性能の低下がみられた。以上のことから、JMTF1 は JA シグナルを正に 制御する因子であると同時に、オーキシンシグナルの負の制御因子である可能性 が示された。近年の研究により、オーキシンがイネ白葉枯病抵抗性を負に制御す ることが明らかになっている。そこで、オーキシン応答性遺伝子の JMTF1 過剰 発現イネにおける発現挙動を解析したところ、多くの遺伝子の発現が抑制されて いた。一方で、オーキシンシグナルの負の制御因子である OsIAA13 遺伝子の発 現が、誘導されていた。以上のことから、イネ白葉枯病抵抗性において、JA とオ ーキシンは拮抗関係にあり、その分子スイッチとして JMTF1 が機能している可 能性が示された。

以上のことから、OsMYC2 及び JMTF1 が複雑なホルモンシグナル伝達機構を制御することにより JA 誘導性のイネ白葉枯病抵抗機構に寄与していることが明らかとなった。