

学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名： 柏原 啓太
Name

学位論文題目： イネ病害抵抗性に重要なジャスモン酸シグナルを制御する
Title of Dissertation 複合体に関する研究

学位論文要旨：
Dissertation Abstract

【背景】

イネは、世界中で栽培されている主要作物の一つであるが、栽培技術が向上し農薬開発が盛んに行われている現在においても、毎年予想収穫量の20~30%が病害による被害を受けている。このことから、イネの病害抵抗性研究は収量増加に直結する非常に重要な研究である。しかしながら、その抵抗性の誘導機構の大部分は未だ明らかとなっていない。

ジャスモン酸 (JA) は植物の生長発達や様々なストレス応答に関与することが報告されている植物ホルモンである。当研究室では、JAを処理することでイネの重要病害であるイネ白葉枯病に対する抵抗性が誘導されることを明らかとしている。JAシグナル伝達機構に関与する因子の内、負の制御因子であるOsJAZ8や正の転写因子であるOsMYC2がイネ白葉枯病抵抗性に重要な役割を担っていることが明らかとなっている。しかしながら、OsMYC2を制御する複合体構成因子についてはほとんど明らかとなっていなかった。そこで本研究では、OsJAZ8と相互作用を示したOsNINJA1に着目し、JA誘導性イネ白葉枯病抵抗性機構におけるOsNINJA1の役割の解明を進めた。また、OsNINJA1複合体構成因子を探索し、得られたOsSR01aとOsFHA1の機能解明を行うことで、イネJAシグナルを制御する複合体の詳細を明らかにするべく、研究を進めた。

【方法】

これまでに、JAシグナルは早期応答 (JA処理0~12時間) と後期応答 (24時間以降) に分類されることが明らかとなっている。そこで、RT-qPCRを用いてJA処理後における経時的な発現挙動解析を行い、OsNINJA1やOsSR01a等がJA処理後いつのタイミングで発現のピークをむかえるのかを解析した。また、Yeast two hybrid (Y2H) 法、Bimolecular Fluorescence Complementation (Bi-FC) 法を用いてOsNINJA1やOsSR01a、OsFHA1がどのようなタンパク質と複合体を形成するのかを調べた。次に、過剰発現イネの作出し、JA処理イネで見られる生理作用である根の伸長阻害作用やクロロフィル分解作用を解析した。次に、過剰発現イネにイネ白葉枯病菌を接種し、イネ白葉病に対する抵抗性を調べた。さらにRT-qPCRを用いて過剰発現イネにおける防御関連遺伝子の発現挙動を解析した。

【結果】

・イネ白葉枯病抵抗機構におけるOsNINJA1の機能解明
OsNINJA1はJA処理後8時間の早期において最も発現が誘導されることが明らかとなった。また、OsNINJA1はイネのJAZタンパク質のうち、OsJAZ14、OsJAZ15以外のJAZタンパク質やOsTPR1と相互作用することが明らかとなった。また、OsNINJ

A1過剰発現体ではJA非感受性の表現型を示した。また、この過剰発現体ではWTと比較してイネ白葉枯病抵抗性が低下することが明らかとなった。さらに*OsNINJA1*過剰発現体ではWTに比べ供試したほとんどの*OsMYC2*応答性防御関連遺伝子においてその発現が抑制されることが明らかとなった。

・JA誘導性イネ白葉枯病抵抗機構における*OsNINJA1*複合体構成タンパク質の機能解明

*OsSRO1a*はJA処理後24時間の後期において最も発現が誘導された。また、*OsSRO1a*は*OsNINJA1*と*OsMYC2*と相互作用することが明らかとなった。また、*OsSRO1a*過剰発現体では、JAに対して非感受性の表現型を示した。さらにこの過剰発現体では、JAによるイネ白葉枯病抵抗性の誘導がみられなかった。そこで、JA処理後における*OsMYC2*応答性防御関連遺伝子の発現挙動を調べたところ、*OsSRO1a*過剰発現体ではJAによって誘導される*OsMYC2*応答性防御発現遺伝子の発現誘導がみられないことが明らかとなった。

また、*OsFHA1*は*OsJAZ2*と相互作用することが明らかとなった。*OsFHA1*過剰発現体は根においてはJA非感受性を示したが、地上部ではWTと同程度のJA感受性を示すことが明らかとなった。また、この過剰発現体ではJA処理によってWTと同程度のイネ白葉枯病抵抗性を示すことが明らかとなった。そこでJA処理後の*OsMYC2*依存的・非依存的防御関連遺伝子の発現挙動を調べたところ、*OsFHA1*過剰発現体では*OsMYC2*依存的防御関連遺伝子のJAによる発現誘導がみられないことが明らかとなった。一方で、*OsMYC2*非依存的防御関連遺伝子の発現は誘導されることが明らかとなった。

【総括】

本研究により、*OsNINJA1*はJA誘導性イネ白葉枯病抵抗機構において通常時ににおいて、JAZタンパク質や*OsTPR1*と複合体を形成することで*OsMYC2*によるシグナル伝達機構を負に制御することが明らかとなった。また、*OsSRO1a*は*OsMYC2*によって活性化されたJAシグナルが不活性化する時期にその発現がピークになり、*OsNINJA1*と複合体を形成し、*OsMYC2*シグナルを不活化状態に戻すための重要な因子であることが明らかとなった。また、*OsFHA1*は*OsNINJA1*や*OsJAZ2*と複合体を形成し、JAによって早期に誘導される*OsMYC2*シグナルを負に制御するのに重要な因子であることが明らかとなった。

以上の結果から、イネは様々なタンパク質が複合体を構成し、状況に応じてその組み合わせを変えることで、JA誘導性病害抵抗性シグナルの緻密な制御を行っている可能性が示された。