

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14437

研究課題名(和文)ポリコーム複合体群因子による植物免疫誘導・免疫記憶樹立機構の解析

研究課題名(英文) Polycomb group protein-mediated control of transcriptional reprogramming and priming in systemic plant immunity

研究代表者

田島 由理 (Tajima, Yuri)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・特任助教

研究者番号：80771154

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：植物は、全身での免疫活性化後に二次刺激に敏感に応答できるプライミング状態になる。これまで、一般に転写抑制に働くヒストン修飾酵素CLFおよびその複合体(ポリコーム複合体・CLF-PRC2)がプライミング時に防御応答遺伝子群をむしろ正に制御することを見出した。さらに、種子特異的にCLFと同様に機能するMEAが、防御応答時には葉で発現誘導されプライミングを正に制御することを示した。またプライミング誘導時にMEA-PRC2の標的となる候補遺伝子リストを得ることができた。すでに取得済みのCLF-PRC2標的遺伝子リストと照らし合わせることで、PRC2によるプライミング制御の鍵遺伝子を絞り込む。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原菌による農作物の減収は、現代の農業において解決すべき重要課題の一つである。その対策の一つとして病害抵抗性遺伝子を標的とした育種がこれまで行われてきている。しかし、一般に防御応答を増強すると植物生産が低下することや、病害抵抗性遺伝子による抵抗性打破が起こることから、他の手段が必要であると考えられる。免疫プライミングは植物生長を維持しながらも防御応答を増強・誘導可能であることから、有用な対策となりうる。プライミングの成立や制御に関わる分子基盤の一端を明らかにすることによって、持続可能な農業生産システム開発の一助になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Local defense activation at the pathogen recognition sites leads to systemic acquired resistance (SAR) in plants. During and/or after SAR, subsets of defense-related genes are poised for faster/greater induction upon the subsequent stimulus, designated systemic defense priming. We previously showed that CLF, which is a histone H3K27 methyltransferase subunit of polycomb repressive complex 2 (PRC2), positively regulates systemic defense priming in *Arabidopsis thaliana*. This study showed that MEA, which is a seed-specific homolog of CLF, is induced in leaves upon defense activation and also positively regulates systemic defense priming. Local immunity is not impaired in *prc2* mutant plants, pointing to a significant role of PRC2 in systemic defense priming. To reveal genome-wide dynamics of these histone modifications in the establishment of defense priming, currently we have been analyzing H3K4me3 and H3K27me3 profiles during SAR.

研究分野：植物微生物相互作用

キーワード：シロイヌナズナ 植物免疫 プライミング ポリコーム複合体 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物は様々な外的ストレスに対して適切に応答し、生育している。ストレス応答の一部は記憶化され、植物が類似したストレスに再び曝された際に、より素早くあるいはより強く応答できる。例えば、植物が病原体の侵入や感染を認識して防御応答が活性化されると、病原体認識部位に加えて全身で防御応答が誘導される(全身獲得抵抗性)だけでなく、その応答が記憶化されたプライミング状態となる。

これまでに、モデル植物シロイヌナズナにおける全身性免疫プライミングには、転写活性型のヒストン修飾 H3K4me3 を担う ATX1 と転写抑制型のヒストン修飾 H3K27me3 を担う H3K27 メチル基転移酵素 CLF を含むポリコム群抑制複合体 (PRC2) の両方が必要であることが明らかとなっていた。興味深いことに、CLF と同様の働きを種子特異的に担う MEA が、防御応答時には葉で発現誘導され、全身性免疫プライミングに寄与するという予備知見を得た。そこで、CLF に加えて MEA にも着目することによって、全身性免疫プライミングの分子機構をより詳細に解析できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

ヒストン修飾 H3K4me3 と H3K27me3 およびこれら修飾を担うヒストン修飾因子が全身性免疫プライミング成立に重要であることは示されたものの、プライミング制御・成立の分子基盤について詳細な情報は得られていなかった。そこで、プライミング成立に関わる CLF/MEA-PRC2 の機能部位やプライミング標的遺伝子の特異的な認識機構の一端を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法 (図)

シロイヌナズナをモデルとし、防御応答を誘導する一次刺激として病原細菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst*) AvrRpm1 を成熟葉に接種した。接種葉での防御応答については、接種 3 日後の *Pst* AvrRpm1 量により評価した。また、*Pst* AvrRpm1 接種 3 日後にプライミング葉のみ応答する二次刺激として、水刺激を 3 時間与えたシステミック葉 (非接種葉) を回収した。回収したシステミック葉でのマーカー遺伝子の発現を RT-qPCR 解析によって調べ、プライミングが成立しているか評価した。また、免疫プライミング成立に伴うゲノムワイドなヒストン修飾の動態を調べるため、先述と同様に *Pst* AvrRpm1 接種を行なった。3 日後に二次刺激を与えずにシステミック葉を回収し、クロマチン免疫沈降シーケンス解析 (ChIP-seq 解析) 及び ChIP-qPCR 解析に供した。

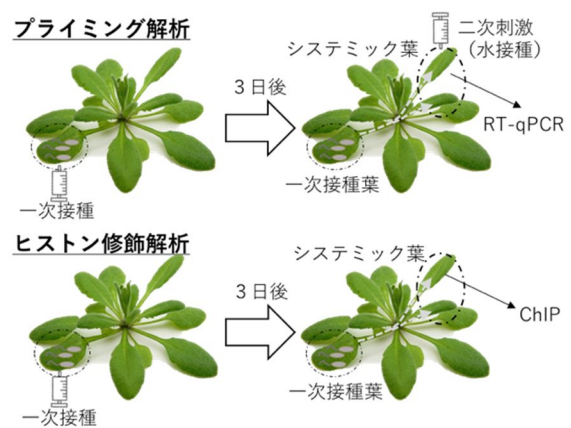


図) 実験手法

4. 研究成果

(1) 全身性免疫プライミングにおける MEA/CLF-PRC2 の機能解析

全身性免疫プライミングの成立には、1. 接種葉での一次防御応答、2. 接種葉から全身へのシグナル伝達、3. 全身での記憶化の 3 ステップが必要である。MEA の機能欠損

変異をホモで持つと種子が胚性致死を示すことが知られていたため、機能欠損変異をヘテロで持つ *mea* 変異体植物を用いてこれらの表現型について調べた。

全身性免疫プライミングについて、*mea* 変異体植物では *clf* 変異体植物と同様、野生型植物よりもプライミングマーカー遺伝子の発現が低下していた。このことから、MEA/CLF-PRC2 は免疫プライミングを正に制御することがわかった。一方で接種葉での *Pst AvrRpm1* 量を調べた結果、*mea* 変異体植物では野生型植物よりも抑えられており、MEA は接種葉での防御応答をむしろ抑制していることが明らかとなった。*clf* 変異体植物においても、接種葉での防御応答は野生型植物と同程度でありながら全身性免疫プライミングが低下していたことを併せて考えると、PRC2 はシステミック葉で機能することが全身性免疫プライミングに重要であることが示唆された。

(2) 全身性免疫プライミング成立に伴うゲノムワイドなヒストン修飾動態の調査

一般に、PRC2 はヒストン修飾 H3K27me3 を付与することで遺伝子発現を抑制することが知られている。一方で、免疫プライミングにおいては、防御応答関連遺伝子の発現誘導に PRC2 が必要であること、および PRC2 依存的に H3K4me3 修飾が防御応答遺伝子座に増加することが遺伝学的・分子生物学的解析から明らかになった。そこで、免疫プライミング時に PRC2 は、通常の植物生長・発生制御時とは異なる遺伝子を標的としているのではないかと考えて、標的遺伝子候補の探索を行なった。野生型植物と *mea* 変異体植物において免疫プライミングを誘導し、ChIP-seq 解析により H3K4me3 および H3K27me3 動態を調べた。現在、その結果を解析している。また、*clf* 変異体植物で同様の実験を行っており、*mea* 変異体植物で得られた結果と照合をすることで、プライミング誘導時に PRC2 依存的に H3K4me3 および H3K27me3 動態の変化がみられる遺伝子座の絞り込みを進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuri Tajima, Eliza Po-iiian Loo, Yusuke Saijo	4. 巻 -
2. 論文標題 Plant physiological and molecular mechanisms in cross-regulation of biotic-abiotic stress responses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants	6. 最初と最後の頁 21-34
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817892-8.00002-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 田島由理、Eva-Maria Reimer-Michalski、Eliza Loo Po-iiian、Barbara Kracher、Franziska Turck、佐藤昌直、西條雄介
2. 発表標題 ポリコム抑制複合体を介した植物免疫プライミング機構
3. 学会等名 日本植物病理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuri Tajima, Eva-Maria Reimer-Michalski, Eliza Po-iiian Loo, Barbara Kracher, Franziska Turck, Masanao Sato, Yusuke Saijo
2. 発表標題 A positive role for Polycomb repressive complex in systemic immunity and defense priming in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuri Tajima, Masanao Sato, Eva-Maria Reimer-Michalski, Eliza Po-iiian Loo, Barbara Kracher, Franziska Turck, Yusuke Saijo
2. 発表標題 Polycomb repressive complex 2 positively regulates systemic immunity and priming in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 2019 IS-MPMI XVIII Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田島由理・佐藤昌直・Eliza Po-lian Loo・西條雄介
2. 発表標題 ポリコム抑制複合体依存的に機能する植物免疫プライミング制御因子の同定
3. 学会等名 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yi Ting Yeh, Yuri Tajima, Eliza Po-lian Loo, Natsuki Shiraishi, Yusuke Saijo
2. 発表標題 Histone modification-mediated control of systemic defense priming in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考