

令和 3 年 7 月 7 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16165

研究課題名（和文）植物免疫と多様な環境要因が形成する情報伝達ネットワークの解明

研究課題名（英文）Elucidation of information transmission networks formed by plant immunity and various environmental factors

研究代表者

野元 美佳（Mika, Nomoto）

名古屋大学・遺伝子実験施設・助教

研究者番号：70825736

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）：申請者が確立したコムギ胚芽由来の無細胞タンパク質合成系を用いて、サリチル酸（SA）シグナルの鍵転写補助因子NPR1と転写因子の相互作用スクリーニングを行った結果、標的転写因子候補をいくつか同定した。特に、NPR1はジャスモン酸（JA）シグナルを正に制御するMYC2転写因子と相互作用し、その転写活性を負に調節することを示した。本研究によって、長く不明であったSAとJAのクロストークの分子機構が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究のアプローチは、SAやJA以外のホルモンシグナル、さらには転写因子を標的とする光受容体のファイトクロムや、多様なリン酸化酵素などにも適用可能である。例えば、ジベレリンやオーキシンなどの植物ホルモンシグナルは、他の環境応答や内生の情報伝達機構に影響を与えられ、その転写制御ネットワークは不明な点が多い。本研究成果に基づき、ジベレリンやオーキシンシグナルの転写補助因子を用いた相互作用解析を行い、それらの標的転写因子群を網羅的に同定することが可能になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We demonstrate that SA-induced NPR1 is recruited to JA-responsive promoter regions that are co-occupied by a JA-induced transcription complex consisting of MYC2 activator and MED25 mediator subunit. In presence of SA, NPR1 replaces JA-regulated JAZ repressors by directly interacting with MYC2 and inhibiting its transcriptional activity. We find that NPR1-mediated suppression of MYC2 is a major immune mechanism for curtailing virulence of pathogens that attempt to hijack JA signaling for their own benefit, underscoring NPR1-mediated antagonism as a driver of versatile immune responses.

研究分野：植物分子・生理科学

キーワード：植物ホルモン 転写因子 植物免疫

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物は、生細胞に寄生する寄生菌の細胞壁構成成分や分泌物などを受容体によって認識すると、感染部位において自然免疫を活性化し、寄生関係の樹立を阻害する。また同時に、感染葉において長距離シグナル伝達物質を生成し、全身に病原菌感染情報を伝達することで、非感染葉においても疾病防御応答を誘導する。この全身獲得抵抗性と呼ばれる二次応答は、非感染葉において植物ホルモンであるサリチル酸(SA)が生成、蓄積することで誘導される。SA 応答性遺伝子群の90%以上は、転写補助因子である NPR1 によって制御されており、*npr1* 変異体は強い免疫不全の形質を示す。

以上のような寄生菌に対する疾病防御応答と、多様な環境要因が誘起する情報伝達経路は、互いに影響を及ぼすことが知られている。環境要因としては、水分、栄養条件、光、気温、昆虫、微生物などが挙げられる。例えば、昆虫や死細胞に感染する腐生菌が加害すると、植物はホルモンであるジャスモン酸(JA)を合成し、JA 応答性の遺伝子発現を介してこれらに抵抗する。しかし、予め寄生菌が感染し、SA シグナルが活性化していると、JA シグナルは強く抑制され、虫害や腐生菌の被害が拡大することが知られている。このような、植物を取り巻く多様な環境状態を総合的に判断し、個々のシグナル伝達系を調節する情報処理機構は、植物の生存や恒常性維持の根幹を為すが、その仕組みはほとんど明らかにされていない。

申請者は、上述の SA/JA シグナルの相互作用(クロストーク)について、NPR1 は、JA シグナルを正に制御する MYC 転写因子の転写活性化能を直接阻害し、JA 応答性の遺伝子発現を抑制することを明らかにした。また NPR1 は、JA シグナル以外のシグナル伝達経路を抑制することを示す遺伝学的な結果を得ている。この NPR1 のような転写補助因子を介した情報伝達経路間のクロストークは、他のホルモンシグナルの鍵転写補助因子においても同様な報告が幾つかなされている。そこで本研究では、SA/NPR1 依存的に活性化する寄生菌抵抗性と、多様な環境応答機構とのクロストーク解析という観点からこの問題に取り組んだ。

### 2. 研究の目的

(1) NPR1 が標的とする新規転写因子を同定し、それらを特徴付ける。

(2) SA および JA シグナル活性化時の NPR1 タンパク質の結合部位を ChIP-seq によってゲノムワイドに同定する。

### 3. 研究の方法

(1) コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質合成系を用いて、FLAG タグが付加されたシロイヌナズナ転写因子タンパク質とピオチン化 NPR1 を合成し、相互作用を AlphaScreen システムによって定量評価した。無細胞タンパク質合成系の翻訳液を用いたコントロールと比較して、有意に相互作用が認められた転写因子は、2 次スクリーニングとして、ベンサミアナ葉を用いた BiFC 解析に供試し、生体内における相互作用の有無を調査した。NPR1 との相互作用が陽性であると認められた転写因子は、T-DNA 挿入によるノックアウト系統を取り寄せ、環境応答性遺伝子の発現を指標として表現型を調査した。

(2) *35S:NPR1-GFP* 植物を用いて SA 処理、及び SA と JA 共処理の ChIP-seq 解析を行った。得られたプロモーターのモチーフ解析の情報をもとに、当該転写因子が介在する情報伝達経路を推定し、T-DNA 挿入によるノックアウト系統に対して表現型を確認した。

### 4. 研究成果

*35S:NPR1-GFP* 植物の ChIP-seq の結果から、特に興味深い NPR1 の標的配列として、bHLH 転写因子の認識配列である G-box (CACGTG) と TGA 転写因子が認識する TGACG が検出された。G-box は、JA シグナルを正に制御する MYC 転写因子の結合配列として知られており、これまでの NPR1 と転写因子の相互作用スクリーニングにより、NPR1 は MYC 転写因子と結合することを明らかにしている。そこで、JA を処理した既知の ChIP-seq データを利用して、MYC2 と MYC 転写因子に結合するメディエーター複合体の構成要素である MED25 のゲノム上での分布を NPR1 の局在位置と比較した結果、NPR1 はこれら JA シグナルの制御因子と同じ領域に分布することが明らかになった。

タバコを用いたレポーターアッセイにより、MED25/MYC2 複合体による *LOX3pro:LUC* の活性を NPR1 は抑制することを明らかにした。以上の結果から、多様な環境応答機構とのクロストークにおいて、NPR1 は標的転写因子と相互作用し、その転写活性を負に調節することが強く示唆された。本研究によって、長く不明であった SA と JA のクロストークの分子機構が明ら

かになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mika Nomoto, Yukiya Kitagawa, Tomotaka Itaya, Takamasa Suzuki, Yasuomi Tada
2. 発表標題 CHIP-seq analysis of SA-responsive transcription cofactor NPR1 in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 IS-MPMI XV Congress2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野元美佳、Michael Skelly、板谷知健、鈴木孝征、松下智直、時澤睦朋、桑田啓子、森仁志、山本義治、東山哲也、塚越啓央、Steven Spoel、多田安臣
2. 発表標題 SAシグナルの鍵転写補助因子NPR1はMYC-MED25複合体を標的としてJAシグナルを抑制する
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口千瑛、野元美佳、北川友希也、Kim Jaewook、花田耕介、山本善治、松下智直、多田安臣
2. 発表標題 サリチル酸応答性NPR1を用いたRNA-seq、ChIP-seqおよびTSS-seqによる遺伝子発現制御機構の解析
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------