

令和 6 年 4 月 9 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05599

研究課題名（和文）イネ病害抵抗性に重要な新奇ホルモン間クロストークを制御する因子に関する研究

研究課題名（英文）Study on a factor regulating novel plant hormone crosstalk involved in rice defense response

研究代表者

五味 剣二（Gomi, Kenji）

香川大学・農学部・教授

研究者番号：50511549

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）：世界の約30億人の主食となっているイネの病害抵抗性研究は、イネの収量増加に直結する重要な研究であるが、その病害抵抗性誘導機構は未解明な部分が多い。本研究により、イネ病害抵抗時に重要なジャスモン酸とサリチル酸のホルモン間クロストークを制御する因子がサリチル酸メチルである可能性を見出すことに成功した。

本研究により、これまでに明らかとされていなかった植物揮発性物質によるイネ特有の新奇病害抵抗メカニズムを発見することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イネの病害抵抗性研究は、世界の主食として極めて重要な穀物であるイネの収量増加に直結する重要な研究であるが、その詳細な抵抗性誘導メカニズムは未解明な部分が多い。本研究のように、イネの病害抵抗性誘導には、植物ホルモンであるジャスモン酸が重要であることや、他の植物ホルモンとのクロストークを一つ一つ丁寧に解明していくことにより、学術的重要性だけでなく、将来の分子育種技術を生かした耐病性イネの作出時に非常に重要な知見を提供できるようになる。

研究成果の概要（英文）：Rice is one of the most important staple food crops worldwide. Jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA) play important roles in plant defense systems. Generally, JA- and SA-signaling interact antagonistically in dicotyledonous plants. However, a monocotyledonous plant, rice, constitutively contains high endogenous SA and the antagonistic interaction between JA and SA is unclear in rice. In this study, we revealed that JA has an important role in the rice defense response. We further revealed that JA-induced methyl salicylate (MeSA) acts as an inducer of common defense system, which is activated by both of JA and SA in rice.

Taken together, we found a novel defense system, which is a rice-specific defense system, in rice disease resistance.

研究分野：植物病理学

キーワード：植物感染生理 植物ホルモン 植物病害抵抗性

1. 研究開始当初の背景

植物はその生活環から、病原体の攻撃から動いて回避することができないため、病原体への対抗手段として、動物とは違った独自の免疫機構を進化させてきたが、その機構の多くはいまだ未解明である。世界の主要作物であるイネでさえその病害抵抗性機構は不明な部分が多く、毎年の予想収穫量の 20~30% を病害で失っていると考えられている。イネの重要病害であるいもち病や白葉枯病に対するこれまでの抵抗性研究は、「遺伝子対遺伝子」や「ガード仮説」に基づく真性抵抗性の研究が主であり、それによって得られた成果は品種改良に利用されてきたが、このような強い抵抗性は、病原体の共進化を誘起し、崩壊することが既に明らかとなっている。その為、現在の分子育種は、持続性があり、かつ、崩壊しにくい圃場抵抗性の強化にも重点がおかれ、それに関する研究が注目されている。申請者はこれまでに、圃場抵抗性を制御する植物ホルモンであるジャスモン酸(JA)によって誘導される植物揮発性物質が、イネ白葉枯病抵抗性機構において重要な役割を持っていることを世界で初めて直接的に明らかにするとともに、その合成酵素遺伝子を利用した耐病性強化イネの作出に成功している。

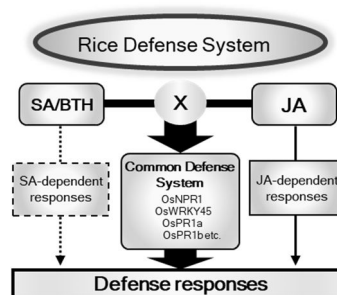


図1. 申請者が提唱した新奇イネ病害抵抗性システム (Common Defense System: CDS)

また、多くの双子葉植物で、病害抵抗性誘導時には、JA シグナルとサリチル酸(SA)シグナルは拮抗的に働く関係にあるが、イネにおいては SA が常時高蓄積しているにもかかわらず JA シグナルが正常に誘導されることから、JA-SA の明確な拮抗作用は不明であった。しかしながら申請者の網羅的な遺伝子発現解析研究により、イネにおいては JA と SA は同じ病害抵抗性システムを“共有し協調している”ことを見出し、2013 年にイネ独自の新奇病害抵抗性メカニズムとしてモデル化し、その共有システムを”common defense system(CDS)”と提唱した(図1)。このモデルは、イネの病害抵抗性研究時に頻繁に見られた、双子葉植物での知見の流用では説明できなかったイネ特有の現象を説明できるモデルとして、近年急速に支持を集めている。また、2016 年の Nature Communications 誌に掲載された研究報告によると、シロイヌナズナにおいても同様の現象がみられる場合があることが確認された。この論文には、申請者が提唱した CDS モデルが明記・引用されており、イネ研究がシロイヌナズナ研究を先行する画期的な発見となっている。さらに申請者の最新の研究により、JA 誘導性の OsVQ13 が、SA シグナルの制御転写因子として働く OsWRKY45 をリン酸化する OsMPK6 と相互作用し、OsMPK6-OsWRKY45 シグナル伝達機構を活性化していることが明らかとなり、SA シグナルを制御していたと思われる中心的なシグナル伝達機構ですら、CDS に含まれている可能性が明らかとなっている。さらに当研究室の植物揮発性物質研究の蓄積により、この CDS を起動する因子が植物揮発性物質の methyl salicylate(MeSA)である可能性が示されてきている。しかしながら、その詳細な制御機構は未解明な部分が多く、全容解明には至っていない。

2. 研究の目的

これまでの申請者の研究により、SA のメチル体である MeSA が、上記図 1 内の “X” としてイネの病害抵抗時に重要な CDS を制御するシグナル物質として働く可能性を示す知見が得られ始めている。そこで本研究では、MeSA によるイネ独自の JA-SA クロストーク制御機構を解明し、これまでに明らかとされていなかった植物揮発性物質によるイネの新奇病害抵抗メカニズムを世界に提示することを目的とする。

3. 研究の方法

これまでの網羅的な遺伝子発現解析等により、JA シグナルと SA シグナルの両方で誘導されている、CDS 依存的な遺伝子群を 50 個程度見出し、その中には SA シグナルを制御すると考えられていた転写因子である OsWRKY45 や転写制御因子の OsNPR1 が含まれていた。本研究では、50 個の遺伝子をさらに選抜して再現性のある 30 個の CDS 応答性防御関連遺伝子を選抜して本研究時のマーカー遺伝子とした。また、JA 応答性 SA メチル化酵素遺伝子(OsBSMT1)過剰発現イネの作出も完了していたので、本過剰発現体を用いてイネ白葉枯耐病性検定、定量的 PCR 解析による CDS マーカー遺伝子の発現挙動解析等を行い、MeSA が病害抵抗性及び CDS を誘導する因子であることを検証した。また、本過剰発現体を用いて、申請者がこれまでに同定した JA 応答性マーカー遺伝子群を用いた発現挙動解析や JA 感受性試験を実施し、CDS 依存的シグナルと CDS 非依存的(真の JA 依存的)シグナル部分を明確化することによって、これまで不明瞭であった、イネの病害抵抗性伝達経路の詳細を明らかにした。さらに、OsWRKY45 の上流に位置し、SA シグナルの大部分を制御していると考えられている OsNPR1 を過剰発現したイネを作出

し、この過剰発現イネにおける CDS 依存的なマーカー遺伝子等の発現挙動解析等を実施し、イネにおいて独立した SA シグナル依存的防御応答機構が存在するのかを検証した。

4. 研究成果

(1) イネ白枯病抵抗性における SA の役割

まず、*OsBSMT1* 過剰発現イネの MeSA 及び SA の含量を測定し、本過剰発現体では、対照のイネと比べて MeSA が高蓄積していることを確認した (図 2)。さらに *OsBSMT1* 過剰発現体では、SA の含量が減少していることも明らかとなった (図 3)。本過剰発現体はイネ白葉枯病に対する抵抗性が誘導されていることが既に明らかになっていたことから (図 4)、本過剰発現体のイネ白葉枯病への抵抗性は SA 含量に依存しないことが明らかとなり、SA 自身が本病害抵抗性には必ずしも必要でないことが明らかとなった。

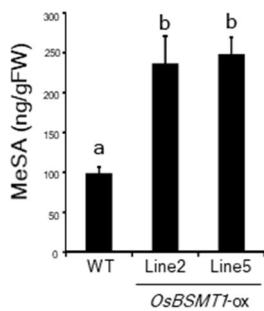


図 2. サリチル酸メチル化酵素 (*OsBSMT1*) 過剰発現イネの MeSA 含量

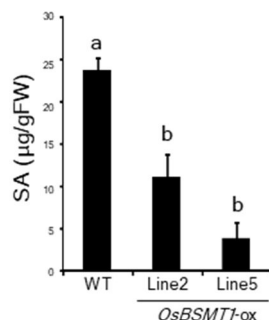


図 3. *OsBSMT1* 過剰発現イネの SA 含量

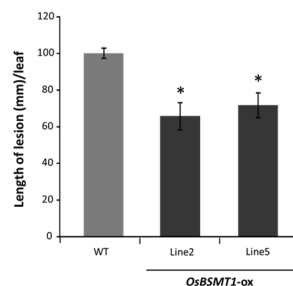


図 4. *OsBSMT1* 過剰発現イネのイネ白枯病抵抗性

(2) *OsBSMT1* 過剰発現体における CDS マーカー遺伝子の発現挙動

OsBSMT1 過剰発現体における CDS マーカー遺伝子の発現挙動解析を行ったところ、多くの CDS 遺伝子において発現が誘導されていることが明らかとなった (図 5)。このことから、JA と SA の両方によって誘導される CDS 遺伝子の多くは、MeSA によっても発現が誘導されることが明らかとなった。本過剰発現体は SA 含量が減少しているため、これまで SA によって誘導されていると考えられていた SA 応答性遺伝子は、SA ではなく MeSA によって誘導されている可能性が示された。

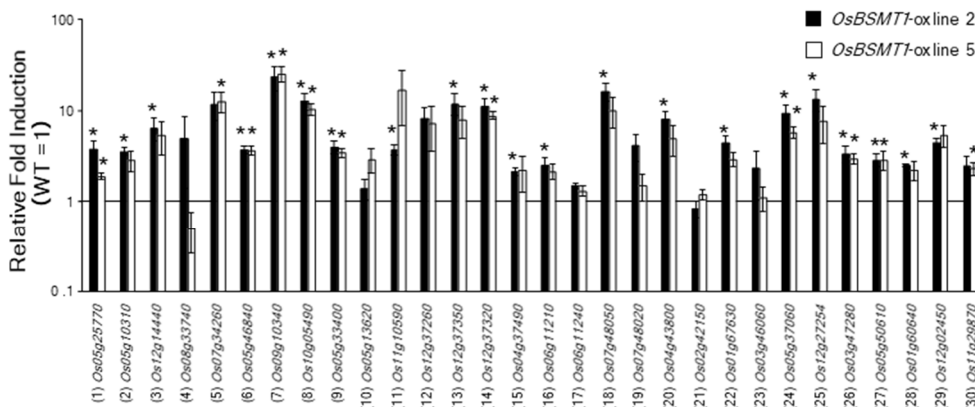


図 5. *OsBSMT1* 過剰発現イネにおける CDS マーカー遺伝子の発現

(3) *OsBSMT1* 過剰発現体における JA 特異的シグナルの解析

OsBSMT1 過剰発現体の MeSA の蓄積が JA 特異的なシグナルにどのように影響しているか検証した。まず、本過剰発現体の JA 感受性を、JA 誘導性のクロロフィル分解作用と根の伸長阻害作用で検証したところ、両作用とも野生型のイネと同じ応答性を示す結果となった (図 6、図 7)。また、CDS に含まれない JA 特異的応答性遺伝子の発現挙動を解析したところ、CDS マーカー遺伝子のような発現の誘導は見られなかった (図 8)。このことから、MeSA は JA 特異的シグナル

には干渉しないことが明らかとなるとともに、イネには JA シグナルと CDS シグナルが別々に存在し、厳密な制御を受けていることが明らかとなった。

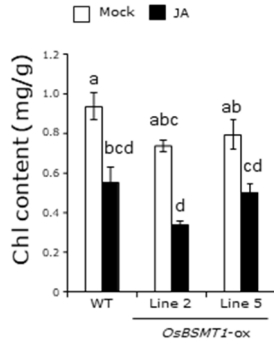


図 6. *OsBSMT1* 過剰発現イネにおける JA 応答性(クロロフィル分解作用)

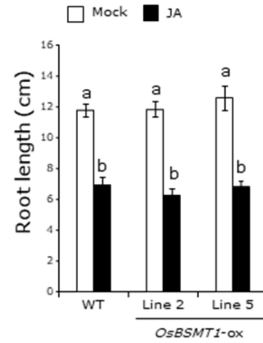


図 7. *OsBSMT1* 過剰発現イネにおける JA 応答性(根の伸長阻害作用)

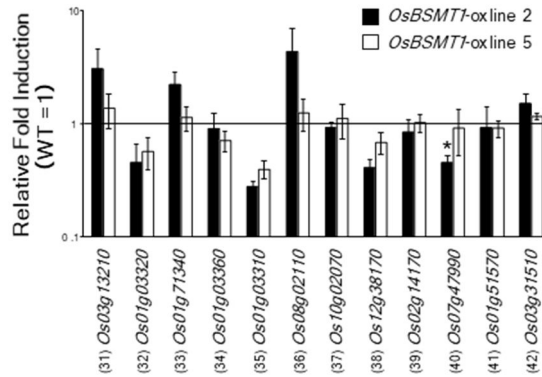


図 8. *OsBSMT1* 過剰発現イネにおける JA 特異的応答性遺伝子の発現

(4) *OsNPR1* 過剰発現体における CDS シグナルの解析

本研究により、これまで考えられてきた SA シグナルは CDS シグナルと重複している可能性が考えられた。そこで、SA シグナルの制御因子と考えられている *OsNPR1* が制御している SA 応答性経路と CDS 経路の関連を検証するため、*OsNPR1* 過剰発現体を作成し、CDS マーカー遺伝子の発現挙動を解析した。その結果、*OsWRKY45* を含む一部の CDS マーカー遺伝子が *OsNPR1* 過剰発現体で高発現していた (図 9)。

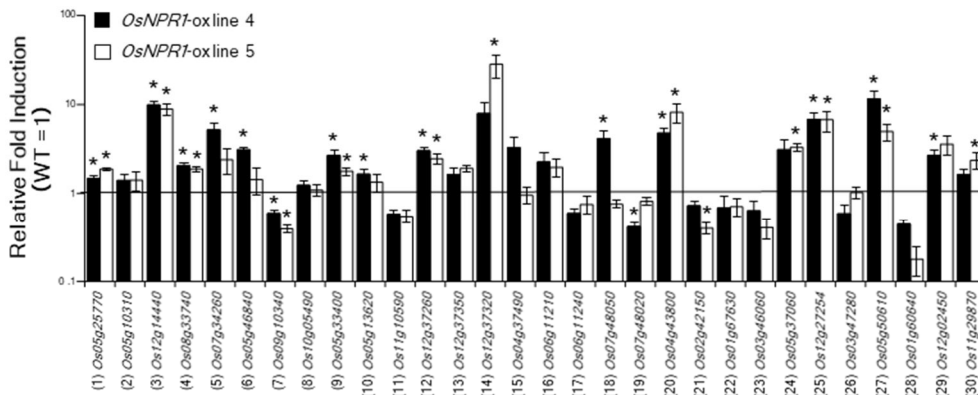


図 9. *OsNPR1* 過剰発現イネにおける CDS マーカー遺伝子の発現

過剰発現体内で高発現していることも明らかとなった (図 10)。

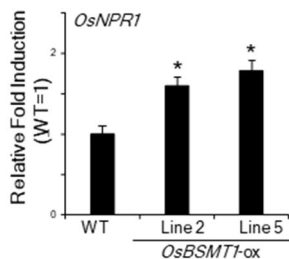


図 10. *OsBSMT1* 過剰発現イネにおける *OsNPR1* 遺伝子の発現

以上のことより、*OsNPR1* は CDS シグナルの支配下にあり、CDS シグナルの一部を制御している可能性が示された。

本研究により、イネには JA シグナルと SA シグナルが共通に利用している新規病害抵抗性システム(CDS)が存在することがより明確になるとともに、その CDS を起動する因子が MeSA である可能性が示された (図 11)。この成果は、イネにおいては JA シグナルと SA シグナルは病害抵抗性時において協働的に作用することによって病気に対抗しているということを強く示唆しており、今まで考えられてきた、JA と SA は拮抗的に作用するという定説を覆すものである。

これまで世界中で行われたイネ病害抵抗性研究において、JA と SA の拮抗的な作用では説明できない現象は観察されていたが、その現象をうまく説明できるメカニズムは提唱されていなかった。その為、本研究成果によって存在が示された CDS は、その現象を説明できる新奇メカニズムとして、今後のイネの病害抵抗性研究の発展に大きく寄与するものであると考える。

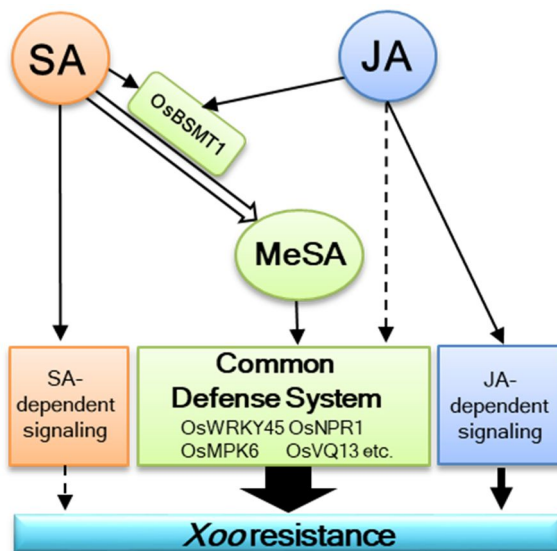


図 11. 本研究で明らかとなったイネの新奇病害抵抗性メカニズム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木豪・濱中美帆・田中啓一郎・谷口しづく・五味剣二
2. 発表標題 ジャスモン酸とサリチル酸によって誘導される共通のイネ白葉枯病抵抗性機構の解析
3. 学会等名 令和4年度日本植物病理学会関西支部会（高知）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木豪・濱中美帆・田中啓一郎・谷口しづく・五味剣二
2. 発表標題 ジャスモン酸応答性サリチル酸メチルによって誘導されるイネ白葉枯病病害抵抗性機構の解析
3. 学会等名 令和5年度日本植物病理学会年会（東京）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松永彩加・木山榛菜・吉富佳代・五味剣二
2. 発表標題 イネ白葉枯病抵抗性機構におけるジャスモン酸応答性モノテルペン化合物の役割
3. 学会等名 令和3年度（第55回）植物感染生理談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武田彩・谷口しづく・五味剣二
2. 発表標題 イネのジャスモン酸誘導性揮発性物質である <i>-cyclocitral</i> を合成する遺伝子の同定
3. 学会等名 令和3年度日本植物病理学会関西支部会（石川）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木豪・瀧中美帆・田中啓一朗・谷口しづく・五味剣二
2. 発表標題 イネ白葉枯病抵抗性におけるジャスモン酸とサリチル酸の関係性に関する研究
3. 学会等名 令和5年度(第57回)植物感染生理談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木豪・瀧中美帆・谷口しづく・五味剣二
2. 発表標題 イネ白葉枯病抵抗性に重要なCommon Defense SystemにおけるOsNPR1の役割に関する研究
3. 学会等名 令和5年度日本植物病理学会関西支部会(奈良)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 五味剣二
2. 発表標題 植物ホルモンによって制御されているイネ白葉枯病抵抗性
3. 学会等名 令和5年度(第57回)植物感染生理談話会(招待講演)
4. 発表年 2023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
---------	---------