

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26291062

研究課題名(和文)植物免疫におけるヒストン修飾を介した遺伝子発現の制御

研究課題名(英文)Histone modification-mediated control of defense-related gene expression in plant immunity

研究代表者

西條 雄介(Saijo, Yusuke)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・准教授

研究者番号：50587764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,200,000円

研究成果の概要(和文)：植物は、免疫の活性化後に全身にわたって微弱な二次刺激に対して敏感に応答できるようになる(プライミング)。転写促進的なヒストンH3第4リジンのトリメチル化(H3K4me3)と転写抑制的なH3K27me3がともに重要であることを示した。次にRNA-seq解析によってプライミング標的遺伝子をリスト化し、その大部分がH3K27me3制御因子PRC2に依存することを明らかにした。さらに、H3K4me3・H3K27me3特異的抗体を用いたChIP-seq解析を実施した(現在、データ解析中)。以上により、植物免疫プライミングの成立に果たす両ヒストン修飾の役割やゲノムワイドな動態が初めて明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Following immune activation, defense-related genes become sensitized to second elicitation throughout the plant, termed defense priming. We show that transcription-permissive histone H3 tri-methylation at the 4th Lysine (H3K4me3) and transcription-repressive H3K27me3 both contribute to defense priming in *Arabidopsis thaliana*. Our RNA-seq analysis has revealed a genome-wide inventory of priming target genes, including those dependent on PRC2 that mediates H3K27me3. We have obtained and been currently analyzing chromatin immunoprecipitation (ChIP)-seq profiles with H3K4me3- and H3K27me3-specific antibodies. This is expected to reveal genome-wide dynamics of these histone modifications during and after the establishment of defense priming. Together, our studies have for the first time revealed a critical role for both H3K4me3 and H3K27me3, together with their target genes and modification dynamics, in defense priming of plants.

研究分野：植物微生物相互作用、植物分子遺伝学

キーワード：遺伝子発現制御 ヒストン修飾 エピジェネティクス 植物免疫

1. 研究開始当初の背景

植物は病原菌の構成成分 (PAMPs) や感染促進エフェクター因子を認識すると、それぞれ PAMP 誘導性免疫 (PTI) 並びにエフェクター誘導性免疫 (ETI) を誘導する。続いて全身で免疫機能を活性化させる (全身獲得抵抗性; SAR)。防御応答の収束後、病原体の非感染部位を含む全身で次の刺激に対する応答が鋭敏にかつスムーズに誘導可能な状態になる (プライミング; 図1)。本研究に先立ち、転写促進型および転写抑制型のヒストン修飾 (H3 の第 4 リジンのトリメチル化: H3K4me3) および H3K27me3 が植物免疫プライミング (植物免疫記憶の構築) に必要であることを示唆する知見を得た。

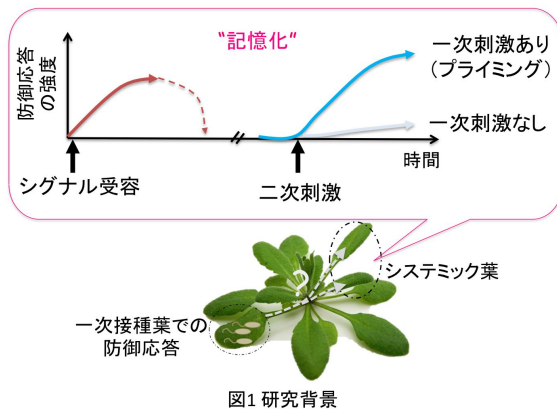


図1 研究背景

2. 研究の目的

ヒストン修飾 H3K4me3 と H3K27me3 がプライミング成立に重要であることが示されたものの、プライミング標的遺伝子やプライミング制御・成立の分子基盤についての情報は得られていなかった。そこで、プライミングの標的遺伝子および関連するヒストン修飾の動態をゲノムレベルで明らかにし、その生理意義並びに病原体の認識からヒストン修飾の制御に至るシグナル伝達について解明を進めることを目的とした。

3. 研究の方法 (図2)

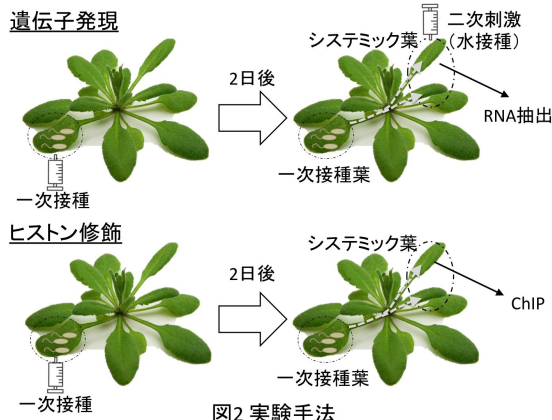


図2 実験手法

一次刺激として病原細菌 *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000 (*Pst*) Δ hrpS または *Pst* AvrRpm1 を成熟葉に接種して防御応答 (PTI または ETI) を誘導させ、2 日後に二次刺激として水刺激 (プライミング葉のみ応

答) 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から RNA を抽出し、RNA シーケンス解析 (RNA-seq 解析) 及び qRT-PCR 解析に供した。

また、プライミング成立に伴うヒストン修飾の動態をゲノムワイドで調べるため、先述と同様に一次刺激を与えた 2 日後、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。

4. 研究成果

(1) プライミング標的遺伝子のリスト化

一般に、ETI は PTI よりも強い防御応答を誘導することが知られている。しかし、SAR やシステミック葉における免疫応答プライミングについて、その強度の差があるのかは知られていなかった。そこで、*Pst* Δ hrpS または *Pst* AvrRpm1 を PTI または ETI のトリガーとして使い、プライミング誘導時の遺伝子発現プロファイルを比較解析した。得られたプライミング標的遺伝子をクラスター化したところ、プライミング強度が ETI < PTI の遺伝子も見られたが、大半が ETI > PTI であった。また、プライミングの結果、抑制が強固になっている遺伝子も多数同定された (図3)。ETI は PTI に比べて標的遺伝子数・強度に関してより強力にプライミングを誘導することが示されたため、以降は *Pst* AvrRpm1 接種による ETI 誘導性プライミングに着目した。

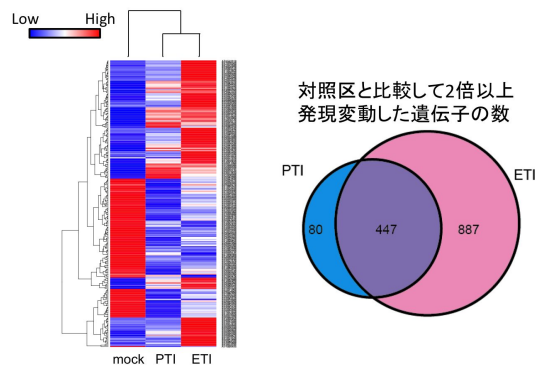


図3 ETIはPTIよりも強いシステミック免疫を誘導する

遺伝学的解析から、ヒストン修飾因子である PRC2 複合体 (H3K27me3 付加因子 CLF) とトリソックス群タンパク質 (H3K4me3 付加因子 ATX1) がプライミングに必要であること、並びに H3K27me3 および H3K4me3 がプライミング成立時に防御応答関連遺伝子座において増加することを明らかにした。PRC2 複合体依存的にプライミングの標的となる遺伝子をゲノムワイドに同定するため、*Pst* AvrRpm1 を接種した野生型植物と PRC2 関連遺伝子の変異体植物のシステミック葉を用い、RNA-seq 解析を行った。その結果、PRC2 複合体依存的および非依存的なプライミング標的遺伝子の候補を多数得た。そのなかで、先述した防御応答関連マーカー遺伝子と同様の発現パターンを示した (ETI 誘導性

かつ PRC2 複合体依存的に発現誘導性のプライミング状態になった) 遺伝子は 157 個存在した。これらの遺伝子のプロモーター領域に共通するシス配列をデータベースにより検索したところ、様々な転写因子結合配列が見られた。この結果から、特定の共通シス配列が PRC2 複合体依存的なプライミングの成立に必須というよりは、異なるシス配列を有する防御応答誘導性遺伝子の一群がプライミングの標的となっており、特定のシス配列の有無だけがプライミング標的の決定要因ではないことが示唆された。本研究では、それらの中で、先述した防御応答関連マーカー遺伝子のプロモーター領域に含まれ、かつそれらのプライミング標的遺伝子が属するクラスターに高頻度で見られたシス配列(サブグループの WRKY 転写因子結合配列)に着目して、現在その配列がプライミングに果たす役割の検証を進めている。

(2) 免疫応答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

プライミング成立に伴い、システムック葉の防御応答遺伝子座において H3K4me3 と H3K27me3 の両方の頻度が増加することがわかった。また、両ヒストン修飾の増加は PRC2 複合体依存的であった。H3K4me3 および H3K27me3 の標的遺伝子をゲノムワイドに同定するために、*Pst* AvrRpm1 を接種した野生型及び PRC2 機能欠損変異体植物のシステムック葉において ChIP-seq 解析を行った。現在、ChIP-seq の結果と上記(1)で得られた野生型および PRC2 関連遺伝子変異体植物での RNA-seq 解析の結果を照合させて、植物免疫プライミングの成立に伴う、PRC2 複合体依存的な H3K4me3 および H3K27me3 の標的遺伝子座のリスト化を進めている。これらを中心とした成果を基礎として、続いて植物免疫プライミングの分子の実態に迫る計画である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

(1) Shigetaka Yasuda, Kentaro Okada, Yusuke Saijo. A look at plant immunity through the window of the multitasking coreceptor BAK1. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2017, 38:10–18, doi: 10.1016/j.pbi.2017.04.007, 査読有

(2) Hirotaka Ariga, Taku Katori, Takashi Tsuchimatsu, Taishi Hirase, Yuri Tajima, Jane E. Parker, Rubén Alcázar, Maarten Koornneef, Owen Hoekenga, Alexander E. Lipka, Michael

A. Gore, Hitoshi Sakakibara, Mikiko Kojima, Yuriko Kobayashi, Satoshi Iuchi, Masatomo Kobayashi, Kazuo Shinozaki, Yoichi Sakata, Takahisa Hayashi, Yusuke Saijo, Teruaki Taji. NLR locus-mediated trade-off between abiotic and biotic stress adaptation in Arabidopsis. *Nature Plants*, 2017, 3, Article number: 17072, doi: 10.1038/nplants.2017.72, 査読有

(3) Nino A. Espinas, Hidetoshi Saze, Yusuke Saijo. Epigenetic Control of Defense Signaling and Priming in Plants. *Front. Plant Sci.*, 2016, 7, 1201. doi: 10.3389/fpls.2016.01201, 査読有

(4) Yusuke Saijo, Kohji Yamada. Fine control of plant immunity through recognition of danger-associated molecular patterns. *Jpn. J. Phytopathol.* 2015, 81, 322-331, doi: 10.3186/jjphytopath.81.322, 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

(1) Yuri Tajima, Eliza Loo Po-ian, Eva-Maria Reimer-Michalski, Barbara Kracher, Franziska Turck, Yusuke Saijo. 「植物免疫におけるヒストン修飾を介したエピジェネティックな遺伝子発現制御機構」 第 58 回日本植物生理学会年会、平成 29 年 3 月 16 日、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

(2) Yuri Tajima, Eliza Loo Po-ian, Yusuke Saijo. 「Polycomb Repressive Complex 2 positively regulates systemic defense priming in *Arabidopsis thaliana*」 CSH Asia 2016 Conference Latest Advances in Plant Development & Environmental Response、平成 28 年 12 月 1 日、淡路夢舞台(兵庫県淡路市)

(3) Yuri Tajima, Eliza Loo Po-ian, Eva-Maria Reimer-Michalski, Barbara Kracher, Franziska Turck, Yusuke Saijo. 「Histone H3 lysine-4 and -27 methyl transferases influence systemic immunity and priming in *Arabidopsis thaliana*」 CSH Asia 2016 Conference Latest

Advances in Plant Development & Environmental Response, 平成 28 年 12 月 1 日、淡路夢舞台（兵庫県淡路市）

(4) 田島由理, 西條雄介, 「ポリコーム群タンパク質は植物免疫を正に制御する」第 57 回日本植物生理学会年会、平成 28 年 3 月 20 日、岩手大学（岩手県盛岡市）

(5) Eva-Maria Reimer-Michalski, Eliza Loo Po-iiian, Yuri Tajima, Barbara Kracher, Franziska Turck, Yusuke Saijo. 「Histone Methylation-mediated Control for Systemic Priming and Resistance in Arabidopsis」第 57 回日本植物生理学会年会、平成 28 年 3 月 20 日、岩手大学（岩手県盛岡市）

(6) Eva-Maria Reimer-Michalski, Barbara Kracher, Franziska Turck, Kohji Yamada, Yusuke Saijo. 「Defense Activation And Priming Upon Danger Sensing In Plant Immunity」第 56 回日本植物生理学会年会、平成 27 年 3 月 17 日、東京農業大学（東京都世田谷区）

(7) Eva-Maria Reimer-Michalski, Barbara Kracher, Francisca Turck, and Yusuke Saijo. 「Histone methylation-mediated control for defense-related transcriptional reprogramming provides a critical basis for systemic priming and resistance in Arabidopsis」IS-MPMI2014、平成 26 年 7 月 6 日～10 日、ギリシャ・ロドス島

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://bsw3.naist.jp/saijo/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
西條 雄介 (SAIJO, Yusuke)
奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ
エンス研究科・准教授
研究者番号：50587764

(2) 研究分担者
該当なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者
該当なし ()

研究者番号：

(4) 研究協力者
該当なし ()