

平成 21 年 4 月 24 日現在

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：平成 18 年度～平成 21 年度

課題番号：18207003

研究課題名 (和文) シロイヌナズナにおける形態形成と耐病性のクロストークに関する分子遺伝学的研究

研究課題名 (英文) Molecular analysis of cross talk between morphogenesis and defense response in Arabidopsis

研究代表者

田坂 昌生 (TASAKA MASAO)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：90176980

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物学・生理学

キーワード：環境応答、形態形成

1. 研究計画の概要

高等植物は発芽後の体作りにおいて多くの環境要因 (光、水分、重力等) の影響を受ける。この外界の影響の中には他の生物種 (シロイヌナズナや菌類) の感染が含まれる。これらの生物の感染は植物に病気を引き起こし、植物側に抵抗性の反応を引き起こす。これまで、病気の発生と植物の体作りの間にクロストークがある事は知られていたが、分子レベルでほとんど判っていない。我々は、シロイヌナズナから 1 遺伝子の変異により地上部の形態に多大な異常を引き起こす半優性の *uni* 変異株を単離し、その原因遺伝子を決定した。この遺伝子は、耐病性反応における信号伝達の初期過程で重要な機能を持つ新規の CC-NBS-LRR タンパク質をコードしていた。そこで、この遺伝子を中心に植物の体作りと耐病性のクロストークを分子レベルで解明する事を本研究の目的とする。

本研究で、この変異株の表現型は、サルチリ酸信号伝達系を介した抵抗性反応の恒常的な活性化、既存の茎頂分裂組織の活性低下、葉腋における過剰な腋芽の形成の大きく 3 つに分ける事が出来る事を明らかにした。そして、これら 3 つを遺伝的に分ける事が出来、腋芽の過剰

生産にサイトカイニンの恒常的な蓄積が関与する可能性が示された。今後は、形態異常に関連する信号伝達系を分子遺伝学的、生化学的に明らかにする事で、抵抗性と形態形成のクロストークの真摯を迫る。

2. 研究の進捗状況

1) *uni-ID* 変異株における耐病性反応の研究; *uni-ID* へテロ個体とホモ個体で、サルチリ酸信号伝達経路が恒常的に活性化され、抵抗性遺伝子が恒常的に発現していた。しかし、ジャスモン酸経路等の抵抗性関連信号伝達系は活性化されておらず、また顕著な細胞死も引き起こされていなかった。なお、サルチリ酸経路は形態異常に関与しない。

2) *uni-ID* 変異株における形態異常; *uni-ID* の形態異常は、既存の茎頂分裂組織の活性低下と、葉腋における多数の茎頂分裂組織形成に分けられる。*uni-ID* でサイトカイニン合成に関わる *IPT3* と *CYP735A2* 遺伝子の発現が上昇しており、その為にサイトカイニン量が恒常的に増加し、タイプ A レスポンスレギュレーターが発現も恒常的に上昇している。これが、芽生えで子葉の腋における腋芽分裂組織の異常形成に関与する事が明らかになった。

3) *uni-1D* 変異株のサプレッサーの単離 ; *uni-1D* 変異をサプレッスする新奇の変異株を多数単離した。その多くは、*uni-1D* 遺伝子内に新たな変異が入り機能が失われたものであった。しかし、いくつかの遺伝子以外の変異により表現型が回復したサプレッサー変異も見つかり、それらの原因遺伝子の同定を開始すると共に、それらの単独変異株の性質の解析を始めた。これらの解析から、既存の茎頂分裂組織の活性低下と葉腋における過剰の腋芽誘導が遺伝的に分離できる事が明らかになった。

4) 活性型 *UNI* が形態形成に関与する分子機構の解析 ; 活性型 *UNI* の下流因子を明らかにする為に、既知の茎頂分裂組織の形成や維持に関わる遺伝子との関連を明らかにした。その結果、*ACC* が葉腋で発現していると *STM* の異所的な発現を誘導し、そこに *MUS-CLV* の発現が誘導されて異常な茎頂分裂組織の形成が見られる事が明らかになった。

3. 現在までの達成度

②おおよそ調音職が推移している

uni-1D に見られる多くの表現型を独立性の高い3つの表現型に分類でき、それぞれに関して表現型を分子レベルで的確に判断できる様になった。これは、今後は分子マーカーを使って信号伝達系の実態を解析できる可能性を示す。これらの成果からおおよそ調音職の研究が進行している。表現型の解析に関連した論文を既に出版しているが、今後はさらに幾つかの論文を出すべく準備中である。

4. 今後の研究の推進方策

1) *uni* 変異株のサプレッサー変異株の研究 ; *uni-1D* 変異の遺伝子外サプレッサーの原因遺伝子の同定と機能解析を行う。

2) *UNI* タンパク質と相互作用する因子の探索 ; 野生型と変異型の *UNI* タンパク質を特異的に認識する抗体を用いて、これらのタンパク質と相互作用するタンパク質を生化学的に抽出する。同時に酵母2ハイブリッド法を用いて *UNI* タンパク質と相互作用するタンパク質も同定する。

3) 変異型 *uni-1D* タンパク質誘導系の確立とそれを使った解析 ; 既に構築した活性型 *UNI* タンパク質をエストロゲン誘導系で発現させる系を使って、活性型タンパク質によって活性化される信号伝達の詳細を解析する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者にのみ下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

* Igari K., Endo S., Hibara K., Aida M., Sakakibara H., Kawasaki T. and Tasaka M. 2008; Constitutive Activation of a CC-NB-LRR Protein Alters Morphogenesis through the Cytokinin Pathway in Arabidopsis The Plant Journal 55 14-27 2008

* Chung K., Igari K. Uchida N. & Tasaka M. new perspectives on plant defense responses through modulation of developmental pathway Mol. Cells 26 107-112 2008

[学会発表] (計 4 件)

田坂昌生 The relation between defence response and morphogenesis in Arabidopsis 第30回日本分子生物学会年会 2007 12月

Tasaka M., Igari K., Chung K., Uchida N. Uni-1D, constitutive active form of novel CC-NB-LRR protein altered morphogenesis through cytokinin pathway in Arabidopsis The 9th International Congress on Cell Biology Seoul (Korea) 2008 Oct.

Chung K., Iari K. and Tasaka M. : Mode of Action of UNI, an Arabidopsis Protein that Connects Defense and Morphology signaling The 9th International Congress on Cell Biology Seoul (Korea) 2008 Oct.

打田 直行, 猪守 和成, 田坂 昌生 : CC-NB-LRR 型遺伝子 *UNI* の活性化型変異体 *uni-1D* を用いた感染応答と形態形成を結ぶ分子機構の解析 第50回日本植物生理学会年会 2009 3月