

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19208004

研究課題名(和文) 植物免疫を統御する転写因子の分子機構解明と耐病性化への応用

研究課題名(英文) Molecular mechanism of transcription factor controlling plant immunity and its application in the production of pathogen-resistant plants.

研究代表者：

吉岡 博文 (Yoshioka Hirofumi)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：30240245

研究成果の概要(和文)：

MAP キナーゼカスケードは、植物免疫に重要な働きを果たす。しかし、防御応答に関わる MAP キナーゼの下流シグナル伝達は明らかになっていない。本研究では、ベンサムアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) の WRKY 型転写因子が SIPK、NTF4 および WIPK の基質であることを見いだした。WRKY8 のリン酸化は、DNA への結合活性を増加させた。MAP キナーゼに依存した WRKY8 のリン酸化は、下流の遺伝子を活性化させることにより防御応答に重要な役割を果たすことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascades have pivotal roles in plant innate immunity. However, downstream signaling of plant defense-related MAPKs is not well understood. Here we provide evidence that *Nicotiana benthamiana* WRKY8 is a physiological substrate of SIPK, NTF4, and WIPK. Phosphorylation of WRKY8 increased its DNA-binding activity. MAPK-mediated phosphorylation of WRKY8 has an important role in the defense response through activation of downstream genes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	13,800,000	4,140,000	17,940,000
2008年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2009年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2010年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
総計	34,500,000	10,350,000	44,850,000

研究代表者の専門分野：植物免疫学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：シグナル伝達、植物免疫、WRKY 型転写因子、耐病性植物、MAP キナーゼ

1. 研究開始当初の背景

近年、植物の防御応答を誘導するシグナル伝達系において、MAP キナーゼ (MAPK) カスケードが重要な役割を担っていることが明らかになってきた。しかし、MAPK 活性化以降の下流のシグナル伝達機構はよくわかっていない。MAPK 基質の単離を目的として、ジャガイモの病害応答性 MAPK である StMPK1 により *in vitro* でリン酸化されるタン

パク質の探索が行われた。同定されたクローンの中には、病害応答に関与する例が多数報告されている WRKY 型転写因子 (WRKY8) が含まれており、本タンパク質が MAPK の基質として機能している可能性が考えられた。本研究では、MAPK シグナル伝達機構の解明を目的として、生体内での WRKY8 のリン酸化を検証し、MAPK によるリン酸化に依存したその機能制御、および防御応答における役割を解析した。

2. 研究の目的

MAPK カスケードはシグナル伝達経路の主要な役割を演じており、様々な防御遺伝子を活性化することで最終的に強固な免疫反応を誘導して病原菌を排除する。しかし、MAPK の下流の因子や防御応答の誘導過程に関する分子機能は明らかになっていない。タバコ植物では、病害応答性の MAPK として SIPK、NTF4、WIPK および NTF6 が単離されている。NTF4 は、アミノ酸配列が SIPK と 93.6%一致し、その性状から SIPK と重複した役割を担っていると考えられている。SIPK、NTF4 および WIPK は、MAPK キナーゼである MEK2 により、また NTF6 は、MAPK キナーゼである MEK1 によりリン酸化され活性化される。これまでの解析により、MAPK であるジャガイモ (*Solanum tuberosum*) の StMPK1 (SIPK オルソログ) が WRKY 転写因子である StWRKY8 (StPPS8) をリン酸化することを明らかにしてきた。WRKY タンパク質は、zinc finger タイプの転写因子であり、WRKY ドメイン配列 (WRKYGQK) を含む。シロイヌナズナでは、74 種の WRKY パラログが見いだされている。WRKY は、いずれも TGAC をコア配列とする W-box 配列 [TTGAC(C/T)] を認識して結合することが知られている。一般に、リン酸化される転写因子は、リン酸化により標的遺伝子の転写誘導活性を上昇させることが知られている。

世界の人口は爆発的な増加を続ける一方、環境汚染や地球温暖化、病害虫による被害の拡大により慢性的な食糧不足が続いている。この深刻な食糧問題を打破するため、地球環境との調和をはかりつつ食糧生産の飛躍的向上を成し遂げうる農業生産技術体系の確立は急務である。本研究は、これらのことを念頭において、遺伝子導入植物を用いた病害防除のための基礎研究を行ったものである。

本研究では、モデル植物である *Nicotiana benthamiana* を用いて、(1) WRKY8 のリン酸化アミノ酸残基を特定した。(2) MAPK に対する基質認識配列であると推定される D ドメインの役割を明らかにした。(3) リン酸化された WRKY8 の W-box に対する結合活性を解析し、転写活性化能を調べた。(4) リン酸化アミノ酸をアスパラギン酸に置換し、擬似的にリン酸化された状態の WRKY8 を用いて下流の標的遺伝子を特定し、併せて WRKY8 の病原菌抵抗性に対する役割を検定した。

3. 研究の方法

(1) 供試植物

Nicotiana benthamiana の種子は、日本たばこ産業株式会社葉たばこ研究所より分譲さ

れた。クレハソイル (呉羽化学) を入れたポリエチレンポットに種子を播き、25°C の恒温室内にて 24 時間の明条件下で静置した。処理を施した植物体は 23°C の恒温室内に移し、16 時間の明条件および 8 時間の暗条件下で生育した。

(2) in vitro kinase assay

in vitro におけるタンパク質リン酸化反応は以下のように行った。50 μM ATP および 50 $\mu\text{Ci/mL}$ [γ - ^{32}P]ATP を含むリン酸化緩衝液に、各種 GST 融合 MAPK と基質タンパク質を加え、室温で 20 分間静置した。反応液に半量の 3 x SDS-PAGE 試料緩衝液を加えて反応を停止し、SDS-PAGE により分画した。泳動後のゲルを 1% ピロリン酸ナトリウムを含む 5% トリクロロ酢酸中で 15 分間、20% (v/v) メタノール中で 5 分間洗浄した後、ゲルドライヤーを用いてゲルを濾紙上で乾燥させた。X 線フィルム (Hyperfilm MP, GE Healthcare) を用いてオートラジオグラフィを行い、シグナルを検出した。

(3) *N. benthamiana* 葉におけるアグロバクテリウムを介した一過的遺伝子発現

遺伝子の一過的発現には、バイナリーベクターに挿入したプラスミドを保持するアグロバクテリウムを用いた。サイレンシングサブプレッサーである p19 の発現には、pBin61 ベクターに *Tomato bushy stunt virus* の p19 を挿入したプラスミドを保持するアグロバクテリウムを用いた。アグロバクテリウムは、50 $\mu\text{g/mL}$ のカナマイシン、50 $\mu\text{g/mL}$ のリファンピシンおよび 5 $\mu\text{g/mL}$ のテトラサイクリンを含む LB 液体培地を用い、28°C で一晩培養した。培養液を 15 μM アセトシリンゴンを含む LB 液体培地で 5-10 倍希釈し、OD₆₀₀ が 0.5 になるまで 28°C でさらに培養した。アグロバクテリウムを遠心分離 (2,000 x g, 15 分間) により集菌し、MES/MgCl₂ 緩衝液 [10 mM MES-NaOH, pH 5.6, 10 mM MgCl₂] に懸濁した後、再び遠心分離により集菌した。集菌したアグロバクテリウムを OD₆₀₀ が 0.5 になるように 150 μM アセトシリンゴンを含む MES/MgCl₂ 緩衝液に懸濁し、室温で 2 時間静置した後、シリンジを用いて播種後約 4 週間の *N. benthamiana* 葉の細胞間隙に注入した。

(4) ウイルス誘導型遺伝子サイレンシング

N. benthamiana における転写後サイレンシングは、*Tobacco rattle virus* (TRV) ベクターを用いて行った。SIPK、WIPK、SIPK/WIPK のサイレンシングには、TRV:SIPK、TRV:WIPK、TRV:SIPK/WIPK を用いた。pTV00 を保持するアグロバクテリウムを 50 $\mu\text{g/mL}$ のカナマイシンおよび 50 $\mu\text{g/mL}$ のリファンピシンを含む LB 液体培地中で、また

pBINTRA6 (RNA1) を保持するアグロバクテリウムを 50 µg/mL のカナマイシンおよび 50 µg/mL のリファンピシンを含む LB 液体培地中で、28°C で一晩培養した。培養液を 15 µM アセトシリンゴンを含む LB 液体培地で 5-10 倍希釈し、OD₆₀₀ が 0.5 になるまで 28°C でさらに培養した。アグロバクテリウムを遠心分離 (2,000 x g、15 分間) により集菌し、MES/MgCl₂ 緩衝液に懸濁した後、再び遠心分離により集菌した。集菌したアグロバクテリウムを OD₆₀₀ が 0.5 になるように 150 µM アセトシリンゴンを含む MES/MgCl₂ 緩衝液に懸濁し、室温で 2 時間静置した。pTV00 を保持するアグロバクテリウムと pBINTRA6 を保持するアグロバクテリウムを 1:1 で混合し、接種後 18 から 20 日目の *N. benthamiana* 葉の細胞間隙に注入した。実験には、ウイルス接種後 2-3 週間の植物の上位葉を使用した。

(5) Subtractive cDNA ライブラリーの構築

機能喪失による WRKY8 下流遺伝子を探索するにあたり、以下の手順で subtractive cDNA ライブラリーを作製した。インサートを持たない TRV を感染させた *N. benthamiana* 葉組織、または TRV:WRKY8 を感染させ、WRKY8 をサイレンシングした *N. benthamiana* 葉組織にアグロバクテリウムを介して StMEK2^{DD} を発現させた。アグロバクテリウム感染 24 時間後に、それぞれの葉組織から、mRNA を調製した。発現量に差のある遺伝子の濃縮は、PCR-Select cDNA Subtraction Kit (CLONTECH) を用い、suppression subtractive hybridization (SSH) 法により行った。操作は、添付のプロトコールに従った。得られた DNA 断片を pGEM-T-easy vector (Promega) にクローニングし、subtractive cDNA ライブラリーを作製した。

機能獲得による WRKY8 下流遺伝子の探索では、以下の手順で subtractive cDNA ライブラリーを作製した。インサートを持たない pER8、または pER8:WRKY8-HA-StrepII をアグロバクテリウムを介して *N. benthamiana* 葉組織に導入した。アグロバクテリウム感染 48 時間後に、10 µM の 17-β-エストロジオールを処理し、さらに 3 時間後のそれぞれの葉組織から、mRNA を調製した。発現量に差のある遺伝子の濃縮は、PCR-Select cDNA Subtraction Kit を用いた SSH 法により行った。操作は、添付のプロトコールに従った。得られた DNA 断片を pGEM-T-easy vector にクローニングし、subtractive cDNA ライブラリーを作製した。

(6) リバースノーザンブロット解析

SSH 法で得られた DNA 断片をドットブロッター (FLE396AA, ADVANTEC) を用いて 1 枚あたり 96 クローンづつナイロン膜 (Hybond-XL, GE healthcare) にブロットした。

DNA 断片を吸着させたナイロン膜を、ハイブリダイゼーション緩衝液 [50% formamide、5 x Denhardt's solution、5 x SSPE、0.5% SDS、100 µg/mL salmon sperm DNA (GE healthcare)] 中で 2 時間 42°C 下で放置し、プレハイブリダイゼーションを行った。ハイブリダイゼーション緩衝液を廃棄した後、新たにハイブリダイゼーション緩衝液および ³²P 標識 cDNA プローブを添加し、16 時間以上 42°C 下でハイブリダイゼーションを行った。この膜を 0.1% SDS 含有 4 x SSPE 中で 60°C 下 15 分間、さらに 0.1% SDS 含有 2 x SSPE 中で 60°C 下 15 分間順次洗浄した。オートラジオグラフィは、X 線フィルムおよび増感紙 Lighting Plus (Dupont) を用いて、-80°C 下で行った。

(7) ゲルシフト法

ゲルシフト法は、以下のように行った。最終的な液量が 16 µL になるように結合反応液 [25 mM HEPES-KOH, pH 7.6、40 mM KCl、1 mM DTT、10% glycerol、5 µg poly (dI-dC) (GE Healthcare)、0.4 µg WRKY8 発現タンパク質、1 µL 標識プローブ (600,000 cpm/µL)] を調製し、結合反応を室温で 30 分間行った。結合反応後、反応液を 0.5 x TBE [44.5 mM Tris、44.5 mM boric acid、1 mM EDTA] 緩衝液中で、10% ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動 (100V、4°C、120 分間) により分画した。検出は、X 線フィルムを用いたオートラジオグラフィにより行った。

(8) 転写活性化能の評価

レポーターベクターは、以下のようにつくられた。CaMV 35S 最小プロモーター (Δ35S) の上流に、酵母 GAL4 転写因子の結合配列である GAL4 upstream activation sequence (GAL4UAS) (CGGAGTACTGTCCTCCG) を 6 個連続して結合させ、キメラプロモーターを作製した。そのキメラプロモーターを、イントロンを含む *GUS* (*GUSint*) の上流に位置するように pGreen ベクターに挿入した。エフェクターベクターは、以下のようにつくられた。単純ヘルペスウイルス VP16 の転写活性化ドメイン (413 から 490 番目のアミノ酸) の cDNA 断片を GAL4 の DNA 結合ドメイン (GAL4DBD) (1 から 147 番目のアミノ酸) の cDNA 断片と連結させ、GAL4DBD-VP16 キメラ遺伝子を得た。得られたキメラ遺伝子を、pGreen ベクターの 35S プロモーターの下流に連結し、pGreen:GAL4DBD-VP16 を作製した。WRKY8 の 1 から 170 番目のアミノ酸をコードする領域 (WRKY8₁₋₁₇₀) を pGreen:GAL4DBD-VP16 の VP16 と置換することにより、pGreen:GAL4DBD-WRKY8₁₋₁₇₀ を作製した。リファレンスベクターは、イントロンを含むホタル luciferase (*LUC*) の cDNA 断片を pGreen ベクターの 35S プロモーターの下流に挿入して作製した。

葉組織への各ベクター遺伝子の一過的な導入発現は、アグロバクテリウムを介して行った。pGreen:GAL4DBD-WRKY8₁₋₁₇₀、pER8:HA-MEK2、レポーターベクターおよびリファレンスベクターを保持するそれぞれのアグロバクテリウムの懸濁液を、5: 1: 10: 5 (終濃度 OD₆₀₀ = 0.25) に混合して接種した。アグロバクテリウムを感染させて24時間後に、10 μM 17-β-エストラジオールを注入し、さらに12時間静置した。転写活性化能は、LUC活性の値をGUS活性の値で割ることにより算出した。

4. 研究成果

ジャガイモと同じナス科に属する *N. benthamiana* は、ウイルス誘導型遺伝子サイレンシング (VIGS) 法、および、アグロバクテリウムを介した一過的遺伝子導入法が確立されており、遺伝子の機能解析に有用である。本研究ではこれらの手法を駆使し、(1) WRKY8 のリン酸化アミノ酸残基の特定、(2) MAPK に対する基質認識配列であると推定される D ドメインの役割、(3) リン酸化された WRKY8 の W-box に対する結合活性および転写活性化能について調べ、さらに (4) 擬似リン酸化 WRKY8 を用いて下流の標的遺伝子を特定し、併せて WRKY8 の病原菌抵抗性に対する役割を検定した。以下、これらの項目に沿って述べる。

(1) StWRKY8 の機能を解析するため、*N. benthamiana* における *StWRKY8* ホモログ (*NbWRKY8*) をクローニングし、大腸菌を用いてタンパク質を調製した。WRKY8 タンパク質は、*in vitro* で SIPK、NTF4 および WIPK により強くリン酸化されたが、NTF6 にはほとんどリン酸化されなかった。種々の変異タンパク質を基質として用いることで、*in vitro* における WRKY8 のリン酸化部位を探索した。その結果、プロリンに隣接した 62、67、79、86、98 番目のセリン (SP クラスター) が SIPK によりリン酸化されると考えられた。SP クラスターは、他の植物の様々な WRKY 型転写因子にも存在しており、特に 79 番目と 86 番目のセリンはよく保存されていた。79 と 86 番目のリン酸化セリン残基を認識する抗リン酸化ペプチド抗体をそれぞれ作製・精製し、MAPK の活性化時におけるリン酸化状態を解析した。両者のセリン残基は、SIPK、NTF4 および WIPK を活性化する INF1 エリクター、および活性型変異体である MEK2 (MEK2^{DD}) の発現に依存してリン酸化された。MEK2^{DD} に応答したこれらのリン酸化は、SIPK、NTF4 および WIPK のすべてをサイレンシングしないと打破されず、SIPK または NTF4 単独の活性化でもリン酸化された。以上の結果は、SIPK、NTF4 および WIPK に

より WRKY8 の少なくとも 2 カ所のセリン残基が生体内でリン酸化されることを示している。

(2) WRKY8 は、SP クラスター近傍に動物や酵母の MAPK の基質によく保存された D ドメイン配列を含んでいる。D ドメインは、MAPK との相互作用に関わり、基質の効率的かつ特異的なリン酸化を保證する役割を持つと考えられている。WRKY8 と SIPK、NTF4、WIPK および NTF6 間の相互作用を *in vitro* pull-down 法で評価した。WRKY8 は、SIPK、NTF4 および WIPK と相互作用したが、NTF6 とは相互作用しなかった。D ドメイン配列への変異の導入は、SIPK との相互作用を著しく低下させ、さらに、*in vitro* における SIPK によるリン酸化、および *in vivo* における MEK2^{DD} に応答した 79 と 86 番目のセリン残基のリン酸化を顕著に抑制した。以上の結果より、WRKY8 は、SIPK、NTF4 および WIPK と D ドメイン依存的に直接相互作用し、その相互作用がこれら MAPK によるリン酸化に必要であることが示された。

(3) WRKY8 の転写因子活性は、リン酸化により左右される可能性が考えられた。ゲルシフトアッセイにより、シス配列である W-box 配列への結合活性に及ぼす WRKY8 リン酸化の影響について調べた。SIPK、NTF4 および WIPK によるリン酸化に依存して WRKY8 の W-box 結合活性が増加した。また、GAL4 システムを用いることにより、SP クラスターのセリンをすべてアスパラギン酸に置換した疑似リン酸化変異体 WRKY8 (WRKY8^{DDDDD}) は、野生型 WRKY8 に比べて顕著に高い転写活性を示すことが明らかになった。これらの結果より、WRKY8 の DNA 結合活性および転写活性は、MAPK によるリン酸化に依存して増加するものと思われた。

(4) GAL4 システムにより、WRKY8^{DDDDD} は標的遺伝子の転写活性を正に制御することが示された。そこで、WRKY8 により制御される遺伝子を同定するために、WRKY8 サイレncing により発現量の低下するクローン、または、WRKY8^{DDDDD} に依存して発現量が増加するクローンを探索した。その結果、リグニン合成に関与すると考えられている *NADP-malic enzyme (NADP-ME)*、およびファイトアレキシンの合成の鍵酵素である *3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMGR)* が下流の遺伝子としてそれぞれ単離された。NADP-ME および HMGR の発現は、WRKY8^{DDDDD} の過剰発現で顕著に誘導されたが、野生型 WRKY8 ではわずかに誘導されるに留まった。これらの結果は、MAPK によるリン酸化が WRKY8 の活性を正に制御する

という考えを支持するものであった。これらの結果を図1に示した。

防御応答における *WRKY8* の役割を調べるため、VIGS法により *WRKY8* をノックダウンし、ジャガイモ疫病菌やウリ類炭疽病菌に対する罹病性を評価した。*WRKY8* サイレンシング個体では、対照区と比較してよりこれらの病原菌が蔓延した。したがって、*WRKY8* は防御応答を正に制御すると考えられた。

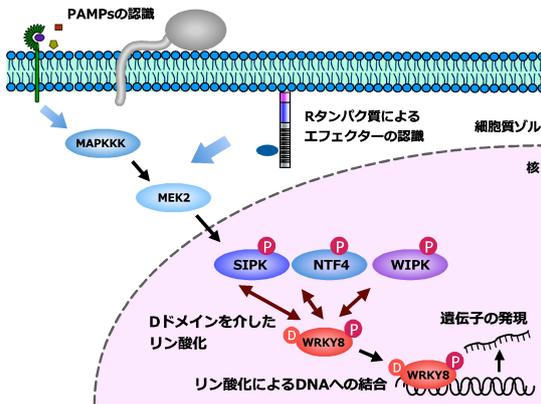


図1. *WRKY8* による植物免疫誘導機構の概念図

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9件)

- ① Yoshioka, H., Mase, K., Yoshioka, M., Kobayashi, M. and Asai, S. (2011) Regulatory mechanisms of nitric oxide and reactive oxygen species generation and their role in plant immunity. **Nitric Oxide** 査読有 doi:10.1016/j.niox.2010.12.008
- ② Ishihama, N., Yamada, R., Yoshioka, M., Katou, S. and Yoshioka, H. (2011) Phosphorylation of the *Nicotiana benthamiana* WRKY8 transcription factor by MAPK functions in the defense response. **Plant Cell** 査読有 23, 1153-1170.
- ③ Asai, S., Yoshioka, M., Nomura, H., Tone, C., Nakajima, K., Nakane, E., Doke, N. and Yoshioka, H. (2011) A plastidic glucose-6-phosphate dehydrogenase is responsible for hypersensitive response cell death and reactive oxygen species production. **J. Gen. Plant Pathol.** 査読有 77, 152-162.
- ④ Asai, S., Mase, K. and Yoshioka, H. (2010) A key enzyme for flavin synthesis is required for nitric oxide and reactive oxygen species production in disease resistance. **Plant J.** 査読有 62, 911-924.

- ⑤ Asai, S., Mase, K. and Yoshioka, H. (2010) Role of nitric oxide and reactive oxygen species in disease resistance to necrotrophic pathogens. **Plant Signal. Behav.** 査読有 5, 872-874.
- ⑥ Asai, S. and Yoshioka, H. (2009) Nitric oxide as a partner of reactive oxygen species participates in disease resistance to necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea* in *Nicotiana benthamiana*. **Mol. Plant-Microbe Interact.** 査読有 22, 619-629.
- ⑦ Yoshioka, H., Asai, S., Yoshioka, M. and Kobayashi, M. (2009) Molecular mechanisms of generation for nitric oxide and reactive oxygen species, and role of the radical burst in plant immunity. **Mol. Cells** 査読有 28, 321-329.
- ⑧ Asai, S., Ohta, K. and Yoshioka, H. (2008) MAPK signaling regulates nitric oxide and NADPH oxidase-dependent oxidative bursts in *Nicotiana benthamiana*. **Plant Cell** 査読有 20, 1390-1406.
- ⑨ Asai, S. and Yoshioka, H. (2008) The role of radical burst via MAPK signaling in plant immunity. **Plant Signal. Behav.** 査読有 3, 920-922.

[学会発表] (計45件)

- ① 石濱伸明・山田麗子・吉岡博文 (2011) *WRKY8* のMAPKによるリン酸化にはD domain依存的な相互作用が必要である。2011年3月, 要旨集
- ② Yoshioka, H., Mase, K., Yoshioka, M., Kobayashi, M. and Asai, S. (2010) Regulatory mechanisms of NO and ROS generation and role in plant immunity. 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Application of Nitric Oxide. 2010年6月, 京都国際会議場, 京都府
- ③ 石濱伸明・山田麗子・吉岡博文 (2010) MAPKによるWRKY型転写因子のリン酸化が植物免疫応答の誘導に関与する。平成22年度日本植物病理学会大会, 2010年4月, 国立京都国際会館, 京都市
- ④ 石濱伸明・吉岡博文 (2010) MAPKによりリン酸化されるWRKY型転写因子が植物免疫応答の誘導に関与する。ポスター発表, 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月, 熊本大学, 熊本市
- ⑤ Yoshioka, H. (2010) Regulation of NADPH oxidase-mediated ROS generation and role in plant immunity. 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月, 熊本大学, 熊本市
- ⑥ Asai, S., Mase, K. and Yoshioka, H. (2010) Riboflavin synthesis participates in regulation of nitric oxide and reactive oxygen species production. Genome-Enabled Integration of

- Research in Plant Pathogen Systems. Poster, 10th US-Japan seminar, 2010年1月, Oregon, USA
- ⑦ Yoshioka, H., Asai, S., Yoshioka, M., Kobayashi, M. and Doke, N. (2010) Nitric oxide and reactive oxygen species in plant defense responses. Genome-Enabled Integration of Research in Plant Pathogen Systems. 10th US-Japan seminar, 2010年1月, Oregon, USA
- ⑧ Yoshioka H. (2009) Molecular mechanisms of generation for nitric oxide and reactive oxygen species, and role of the radical burst in plant immunity. The 21st Annual Meeting of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology "RNA Biology and Disease", 2009年10月, COEX, Seoul, Korea
- ⑨ 浅井秀太・市川達士・小林光智衣・上吉原裕介・森 仁志・吉岡博文 (2009) StCDPK5のvaluableドメインおよびkinaseドメインがStRBOHBの活性化に重要である. 平成21年度日本植物病理学会関西西部会, 2009年10月, 神戸市
- ⑩ 石濱伸明・山田麗子・吉岡博文 (2009) MAPKの基質であるNbWRKY8はHMGR2の発現を正に制御する. 平成21年度日本植物病理学会関西西部会, 2009年10月, 神戸市
- ⑪ 浅井秀太・小林光智衣・吉岡美樹・吉岡博文 (2009) 活性酸素および活性窒素の生成機構および病害抵抗性における役割について. 植物微生物研究会第19回研究交流会, あがたの森文化会館, 2009年9月, 松本市
- ⑫ Asai, S., Mase K. and Yoshioka H. (2009) Riboflavin synthesis participates in plant immune responses in *Nicotiana benthamiana*. XIV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. 2009年7月, Quebec, Canada
- ⑬ Ishihama, N., Yamada, R. and Yoshioka, H. MAPKs phosphorylate WRKY8 and induce defense-related genes in *Nicotiana benthamiana*. XIV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. 2009年7月, Quebec, Canada
- ⑭ Yoshioka, M., Kobayashi, M., Asai, S. and Yoshioka, H. (2009) Transgenic potato plants expressing constitutively active StCDPK5 show late blight resistance, but early blight susceptibility. XIV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. 2009年7月, Quebec, Canada
- ⑮ 石濱伸明・山田麗子・吉岡博文 (2009) MAPKの基質であるWRKY8は植物の防御応答に關与する. 第50回日本植物生理学会年会, 2009年3月, 名古屋大学, 名古屋市

[図書] (計3件)

- ① Yoshioka, H., Asai, S., Yoshioka, M., Kobayashi, M. and Doke, N. (2011) Nitric oxide and reactive oxygen species in plant defense responses. *In* Genome-Enabled Analysis of Plant-Pathogen Interactions. (Wolpert, T., Shiraishi, T., Allen, C., Akimitsu, K. and Glazebrook, J. eds), APS Press, MN, pp. 47-55.
- ② Asai, S. Mase, K. and Yoshioka, H. (2010) Riboflavin synthesis participates in plant immune responses in *Nicotiana benthamiana*. *In* Biology of Plant-Microbe Interactions Vol. 7. Chapter 28, Proceedings of the 14th International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. (Antoun, H., Avis, T., Brisson, L., Prevost, D. and Trepanier, M. eds), IS-MPMI Press, MN
- ③ Yoshioka, H., Asai, S., Miyagawa, N., Ichikawa, T., Yoshioka, M. and Kobayashi, M. (2009) Molecular mechanisms of the radical burst in plant immunity. *In* Molecular Plant-Microbe Interactions. (Bouarab, K., Brisson, N. and Daayf, F. eds), CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 59-74.

[その他]

ホームページ

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/%7ebio4283/index.html>

新聞発表

本研究成果は、23年3月9日に「朝日新聞」「中日新聞」「日刊工業新聞」の朝刊に掲載された。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉岡博文 (Yoshioka Hirofumi)
名古屋大学・生命農学研究科・准教授
研究者番号：30240245

(2) 研究分担者 なし

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：