

主論文

新奇無細胞タンパク質合成系の開発と本法を用いた植物の全身獲得抵抗性の解析

名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻

植物分子シグナルグループ

野元美佳

要約

植物は、寄生菌を認識すると、感染部位において自然免疫を誘導すると同時に、緊急シグナル（長距離シグナル）を生成し、全身にこれを伝達する。同シグナルを認識した非感染葉は、植物ホルモンであるサリチル酸（SA）を生成し、SA 応答性の免疫反応（全身獲得抵抗性：SAR）を誘導する。SAR には、SA シグナルの鍵転写補助因子である NPR1 の活性化が必須であり、NPR1 は SA 応答性遺伝子群の 99%以上を直接的或いは間接的に制御するが、その分子機構は不明である。一方、植物は、虫害や腐生菌に対して、植物ホルモンであるジャスモン酸（JA）を合成し、JA 応答性の防御応答を誘導する。古くから、寄生菌に対する SA 応答性免疫反応が誘導されると、JA 応答が抑制され、虫害や腐生菌の被害が増大することが知られているが、本分子機構も明らかになっていない。

本研究では、NPR1 が制御する SAR の誘導機構と、SAR による JA シグナル抑制機構を明らかにするための基盤技術として、網羅的なタンパク質合成を可能にする、コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質合成系と、その転写鋳型作製技術を開発した。従来の無細胞タンパク質合成系では、翻訳溶液に添加する mRNA を安定化するために、open reading frame の直後に 1000 nt 以上の長い 3'-UTR を付加する必要があった。そのため、転写鋳型の作成は煩雑であり、また、その配列によっては、タンパク質の合成効率は著しく低下する。そこで、申請者は、mRNA を安定化する short 3'-UTR を同定し、同配列を用いた two-step PCR 法による転写鋳型作製技術を構築した。これにより、クローニングしていない cDNA からでも、効率的にタンパク質を合成することが可能になり、網羅的なタンパク質の機能解析が

可能になった。

次に本法を用いて、**SAR** と **JA** シグナル関連タンパク質を網羅的に合成し、タンパク質相互作用解析を行った。その結果、両情報伝達経路の鍵転写補助因子である、それぞれ **NPR1** と **JAZ** は、**SA** シグナルのリプレッサー **WRKY** 転写因子と相互作用することを明らかにした。さらに、**NPR1** と **JAZ** は、**WRKY** のシスエレメントへの結合を阻害し、**SA** 応答性遺伝子群を発現誘導することを示した。一方、**NPR1** は、**JA** シグナルを正に制御する **MYC** 転写因子と相互作用することによって、**JAZ** と同様に **MYC** 依存的な遺伝子発現を抑制することを見出した。以上より、寄生菌、虫害や腐生菌への応答や、それらの拮抗反応は、**NPR1** と **JAZ** が、互いの情報伝達経路の転写制御因子の機能を主として抑制することによって生じることが明らかになった。

本研究は、新奇無細胞タンパク質合成系を開発し、植物免疫や虫害応答に関与する主要調節因子の機能を明らかにしたものであり、今後、本合成系を用いることで、両シグナル伝達経路の拮抗作用に係る分子基盤の解明に貢献できると期待される。