

イネの抗菌性二次代謝産物の生合成とその制御機構に関する研究



帝京大学理工学部 宮 本 眩 司

はじめに

植物は病原菌の感染に対して、抗菌性二次代謝産物ファイトアレキシンの生産を含む様々な病害抵抗性反応を示す。植物が病原菌の感染を認識すると、ジャスモン酸などを介したシグナル伝達によって、核へと情報が伝達される。その後、病害応答性転写因子の発現や活性化が誘導され、さらにファイトアレキシン生合成酵素遺伝子を含む防御関連遺伝子の発現が誘導されることで、様々な防御応答が誘導される。著者は、イネのファイトアレキシンの生合成とその制御機構の解明に取り組んだ。これまでに、イネにおける主要なジャスモン酸受容体の同定、ファイトアレキシン生合成の制御に関わる転写因子の機能の解明、イネ属植物におけるファイトアレキシン生合成の進化軌跡の解明を行ってきた。以下にその詳細を示す。

1. イネの主要なジャスモン酸受容体の同定

ジャスモン酸はストレス応答の誘導に関わるとともに、伸長成長の抑制、老化の促進、雄性生殖器官の発達などにも関わる植物ホルモンである。生体内における活性型分子はジャスモン酸イソロイシンであり、COI受容体によって認識される。モデル植物であるシロイスナズナなどの双子葉植物では、COIをコードする遺伝子はゲノム中に1つが存在する。それに対して、イネを含む单子葉植物のCOIはゲノム中に複数がコードされており、分子系統解析の結果から COI1 と COI2 に分類される。イネでは、COI受容体をコードする3つの遺伝子 (*OsCOI1a*, *OsCOI1b*, *OsCOI2*) が存在する(図1)。まず、著者はゲノム編集を用いて、イネの3つのCOI遺伝子の変異体を作製した。その後、これらを用いてイネCOIの生理機能の解明に取り組んだ。*oscoi2*変異株においてジャスモン酸処理後のファイトアレキシンの生産が低下したことから、*OsCOI2*がファイトアレキシン生合成を制御する主要なジャスモン酸受容体であることを明らかにした。また、*oscoi2*変異株では、稔性の低下や老化の抑制も見られたことから、*OsCOI2*がイネのジャスモン酸応答を制御する主要な受容体であることを発見した(図1)。また、COIと受容体複合体を形成するJAZとの相互作用解析の結果から、*OsCOI2*と特異的に相互作用する

*OsJAZ2*および*OsJAZ5*を見出した¹⁾。これらの発見は、イネのジャスモン酸シグナル伝達機構の解明に寄与するだけではなく、特定の受容体複合体をターゲットとして植物の成長に負の影響を与えるストレス抵抗性を賦与する薬剤の開発するための基礎となる知見をもたらした。また、植物ホルモンが多様な生理作用を発揮する仕組みを解明する足掛かりとして植物生理学の発展にも貢献が期待できる。さらに、单子葉植物が複数のCOI受容体を持つ生理学的意義や植物ホルモンの受容体の進化を考える上でも学術的に重要な発見である。

また、著者は紫外線の暴露によって誘導されるファイトアレキシン生産におけるジャスモン酸の機能についても研究を行った。イネのファイトアレキシンはフラボノイド型とジテルペン型の二種に大別される。著者は、イネのジャスモン酸欠損変異体を用いて、フラボノイド型の生産誘導にジャスモン酸は必須であるがジテルペン型の生産誘導にはジャスモン酸は必須ではないことを示した²⁾。これらのことから、ストレス応答に対するファイトアレキシン生合成におけるジャスモン酸の機能の一端を明らかにした。

さらに、ジャスモン酸の簡便な光学分割法を開発し、数十mgのスケールで光学分割に成功した。調製した光学活性ジャスモン酸のイネにおける代謝と生物活性を異性体間で比較し、非天然型ジャスモン酸の活性が低い理由がジャスモン酸イソロイシンへの代謝効率が低いためであることを示した³⁾。この成果は、COI-JAZ受容体複合体とジャスモン酸イソロイシンとの相互作用解析に有用な分子プローブの原料となる天然型、非天然型ジャスモン酸の供給を可能にした。

2. イネのファイトアレキシン生合成を制御する転写因子の機能解析

著者が研究を開始した当初、イネのジテルペン型ファイトアレキシンの生合成を制御するbZIP型転写因子OsTGAP1が同定されていたが、OsTGAP1によるファイトアレキシン生合成酵素遺伝子の制御機構の詳細は明らかになっていたなかった。まず、著者はクロマチン免疫沈降法と次世代シークエンス解析によって、OsTGAP1のイネゲノム中における結合領域を網羅的に同定した。この結合領域には、ジテルペン型ファイトアレキシンの生合成に重要なメチルエリスリトールリン酸(MEP)経路の初発段階の酵素をコードする*OsDXS3*の転写開始点上流が含まれていた。この結合領域が下流遺伝子の転写に与える影響を解析し、*OsDXS3*がOsTGAP1により直接的に転写制御を受けていることを示した。また、ジテルペン型ファイトアレキシンであるファイトカサン類およびモミラクトン類の生合成酵素遺伝子は、イネゲノム中において遺伝子クラスターを形成している。著者は、OsTGAP1がクラスター中の遺伝子それぞれの近傍の上流域に結合するのではなく、クラスター内の遺伝

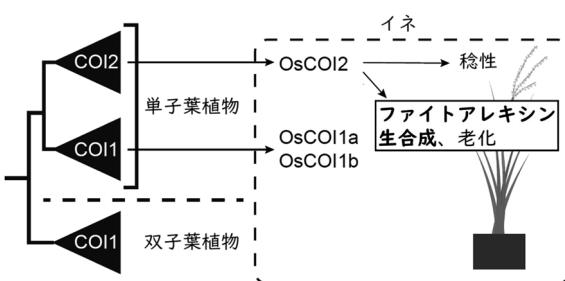


図1. ジャスモン酸受容体の進化とイネにおける機能

子間領域に結合することを発見した⁴⁾。これらのことから、OsTGAP1がクラスター中の遺伝子を1対1で転写制御するのではなく、遺伝子間領域に結合した転写因子がクラスター全体の転写に影響を与えていた可能性が考えられた(図2)。

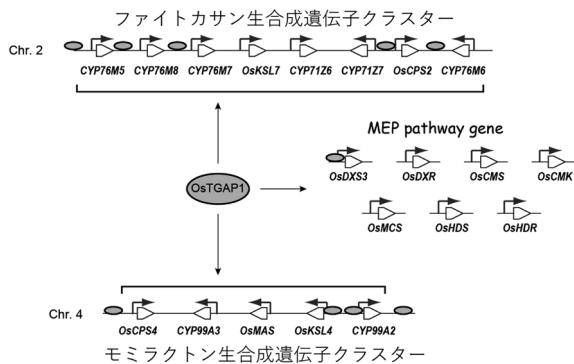


図2. OsTGAP1によるファイトアレキシン生合成遺伝子の転写制御

次に、著者はOsTGAP1と相互作用するタンパク質の探索を行い、bZIP型転写因子OsbZIP79を同定した。OsbZIP79の過剰発現株を作製したところ、培養細胞においてジテルペン型ファイトアレキシン生産が減少することを発見した。このことから、OsbZIP79がジテルペン型ファイトアレキシンの生合成を負に制御することを明らかとなった⁵⁾。これらに加えて、bHLH型転写因子DPFやWRKY型転写因子OsWRKY53もジテルペン型ファイトアレキシンの生合成制御に関わることを他の研究者との共同研究によって明らかにし、著者はこれらの転写因子の機能や下流遺伝子の解明に貢献した^{6,7)}。

以上の成果は、イネの病害抵抗性反応の解明に貢献するだけでなく、転写因子の機能強化によるファイトアレキシン生産の増強といった応用も期待できる。特に、イネのファイトアレキシンは、病原抵抗性だけでなく、虫害抵抗性や周囲の雑草の生育抑制にも寄与しており、ファイトアレキシン生産の強化を介したストレス耐性イネの作出につながることが期待できる。

3. イネ属植物におけるファイトアレキシン生合成の進化軌跡の解明

イネのジテルペン型ファイトアレキシンの生合成遺伝子は、イネゲノム中において遺伝子クラスターを形成している。この遺伝子クラスターの形成過程を解明するため、著者は野生イネやイネの近縁種を用いた比較ゲノム解析を行い、イネ属植物におけるファイトアレキシン生合成の進化軌跡の解析に取り組んだ。まず、イネ(栽培種)の野生原種である *Oryza rufipogon* が遺伝子クラスターを保持していること、ジテルペン型ファイトアレキシン生産能を有していることを明らかにした。このため、イネの栽培化以前に既に遺伝子クラスターが形成されていたことが示された。次に、イネ属の近縁種を用いて解析を行った。イネ属の植物は、染色体の構造から、AA, BB, FFゲノムなどに分類される。モミラクトン類の生合成遺伝子クラスターは、栽培種と近縁なBBゲノムの種においても保存され、モミラクトン類の生産能も有していた。このことから、AAおよびBBゲノム種の共通祖先がモミラクトン類の生合成遺伝子クラスターを獲得したと考えられた。一方、ファイトカサン類の生合成遺伝子クラスターは、BBおよびFFゲノムの種において見出されず、ファイトカサン類も検出されなかった。しかし、

イネ属と近縁のサヤヌカグサ(*Leersia*)属の植物において、ファイトカサン類の生合成遺伝子が見出され、ファイトカサン類の生合成も検出された⁸⁾。このため、イネ属とサヤヌカグサ属の共通祖先において遺伝子クラスターが形成されており、種分化の過程でクラスターを脱落した種がいると考えられた(図3)。これらの成果は、植物の二次代謝や化学防御機構の進化を解明する上で基盤となる重要な知見である。

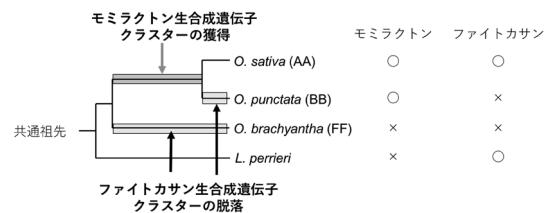


図3. イネのファイトアレキシン生合成遺伝子クラスターの進化軌跡

おわりに

以上のように、著者は、分子遺伝学的手法や天然物化学的手法を用いて、イネのファイトアレキシンの生合成の制御機構についてジャスモン酸の受容および下流の転写因子によるシグナル伝達機構の解明を行うとともに、ファイトアレキシン生合成の進化軌跡を明らかにした。今後も植物のストレス防御機構について、遺伝子と化合物の両面から研究を行い、植物の生存戦略の解明を行っていきたい。そして、得られた成果の農業分野などへの応用も視野に入れ、農芸化学分野の研究を通して社会に貢献していきたい。

(引用文献)

- 1) Inagaki et al., *Plant Cell Physiol.*, **64**, 405–421 (2023)
- 2) Miyamoto et al., *Biosci Biotechnol Biochem.*, **80**, 1934–1938 (2016)
- 3) Miyamoto et al., *Biosci Biotechnol Biochem.*, **83**, 876–881 (2019)
- 4) Miyamoto et al., *PLoS One*, **9**, e105823 (2014)
- 5) Miyamoto et al., *J Plant Physiol.*, **173**, 19–27 (2015)
- 6) Chujo et al., *PLoS One*, **9**, e98737 (2014)
- 7) Ishikawa et al., *Biosci Biotechnol Biochem.*, **88**, 1344–1348 (2024)
- 8) Miyamoto et al., *Plant J.*, **87**, 293–304 (2016)

謝 辞 本研究は、東京大学生物生産工学研究センター(現・アグロバイオテクノロジー研究センター)環境保全工学研究室および帝京大学理工学部バイオサイエンス学科植物化学研究室において行われたものです。両所属において、研究の機会をいただき、多大なご指導を賜りました山根久和先生(現東京大学名誉教授)に心から御礼申し上げます。東京大学在籍時に研究、実験のご指導をいただきました岡田憲典先生、研究の面白さと厳しさを教えていただいた野尻秀昭先生に深く感謝申し上げます。東京大学および帝京大学でお世話になった先生方、先輩方、スタッフ、学生の方々にもお礼申し上げます。また、本研究の実施においてご協力、ご支援をいただきました多くの共同研究者の皆様に感謝いたします。最後に、本奨励賞にご推薦いただきました日本農芸化学会関東支部支部長、東京大学大学院農学生命科学研究科・伏信進矢先生に心より御礼申し上げます。