平成28年度科学研究費助成事業(科学研究費補助金)実績報告書(研究実績報告書)

1. 機 関 番 号	1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名	新学術領域研究(研究領域提案型) 4. 研究期間 平成28年度~平成29年度
5. 課題番号	1 6 H 0 1 4 6 9
6. 研究課題名	ポリコーム群タンパク質が植物免疫の誘導・記憶を正に制御する分子機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	サイジョウ ユウスケ 西條 雄介	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者

研	究	者	番	号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職	名

9. 研究実績の概要

植物は病原体の侵入を認識すると、その認識部位において局所的に防御応答を活性化させるとともに、長距離移行シグナルによって非感染部位を含む全身にわたって免疫機能を亢進させる。その際、特に病原体のエフェクター因子の認識に基づく、強力なエフェクター誘導性免疫が活性化された後には、次の防御応答をスムーズに誘導させる状態(プライミング)が強固に成立する。この植物免疫の記憶化として捉えられる、防御関連遺伝子の発現プライミングの成立には、転写促進型のヒストン修飾(ヒストンH3の第4リジンのトリメチル化:H3K4me3)に加えて転写抑制型のヒストン修飾(H3K27me3)が必要であることを先行研究で遺伝学的に明らかにした。また出るいのよりに対して転写に担いました。または、は18k27me3メチル化因子CLFはエフェクター誘導性免疫そのものにも寄与することを示唆する知見も得た。そこで、酵母から動物・植物まで保存され共通して転写に抑制的に働くとされるH3K27me3、並びにH3K27me3メチル化因子CLFを含むポリコーム群タンパク質PRC2複合体が、意外なことに植物免疫応答やプライミングにおいて防御関連遺伝子の発現を正に制御する分子メカニズムについて解明を進めている。シロイヌナズナのclf機能欠損変異体において得られた、植物免疫ブライミングにおけるRNA-seq解析データとクロマチン免疫沈降(ChIP)-seqデータを元に、現在、PRC2複合体の支配下にある標的ゲノム領域の選定を進めている。並行して、PRC2複合体CLFの直接の標的を調べるためのChIP解析や生化学的解析に必要なリソースの構築や実験条件の検討を進めている。

10. キーワード				
(1) 遺伝子発現制御	₍₂₎ エピジェネティクス	(3) 植物微生物相互作用	₍₄₎ ヒストン修飾	
(5) 転写	(6)	(7)	(8)	

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2)おおむね順調に進展している。

(理由)

CIf変異体植物において得られたRNA-seq解析データ並びにChIP-seq解析データのマイニングや照合に予想以上に時間を必要としたものの、良質のデータが得られた様子であり、植物免疫プライミングにおいてH3K27me3の影響下にある標的遺伝子座に関して独自の重要情報を得たと考えられるため。現在、ここまでの成果をまとめた論文の投稿準備を進めている。また、プロトプラストを用いたプライミングの再構成系などの生化学的アッセイ系の構築や、CLFの標的ゲノム領域を調べるためのChIP実験のリソース準備や条件検討も順調に進んでいるため、当初の計画に関しては概ね順調に進展していると評価される。一方、植物免疫プライミングの分子的実態に本質的に迫るには、コアとなる標的遺伝子(もしくはゲノム領域)を同定する必要性が再認識された。それに向けて、シロイヌナズナにおいて植物免疫プライミングに異常を示す変異体のスクリーニング系を立ち上げ、遺伝学的解析を推進することが最適であると考え、その準備にも着手しており、重要な成果が得られると考えている。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

シロイヌナズナのclf変異体植物において得られたRNA-seq解析データ並びにH3K4me3とH3K27me3のChIP-seq解析データの照合から、両 ヒストン修飾のゲノムワイドの動態情報やPRC2-CLF複合体の支配下にある標的ゲノム領域のプロファイルを得る。ここまでの成果をまとめて論文発表を行う。

で、プロトプラストなどを用いた生化学的アッセイ系により、PRC2依存的なヒストン修飾・クロマチン状態・転写の再構成を試みるとともに、H3K4me3-H3K27me3のビバレント修飾の有無等を調べる。また、PRC2-CLF複合体の構成因子・相互作用因子についても植物細胞においてアフィニティ精製と質量分析を行うことで候補タンパク質のリスト化を行う。これらの解析を合わせて、PRC2の作用機序に 迫る。

~ さらに、植物免疫の記憶の分子実体(プライミングのコア標的遺伝子・ゲノム領域)の同定に向けて、プライミングのマーカー遺伝子などを用いた変異体のスクリーニング系を確立するとともにスクリーニングに着手する。

(課題番号: 16H01469)

13.研究発表(平成28年度の研究成果)

「雑誌論文 】 計(3)件/うち杳読付論文 計(3)件/うち国際共著論文 計(1)件/うちオープンアクセス 計(1)件

著者名) J [] (N	/\ L HIII/\	論		票 題		載確定】	
Yasuda S, Okada K, Saijo Y	A look	at plant im	munity				nultitasking corecep	otor BAK1.
雑 誌 名		査読の有無		巻	発	行年	最初と最後の頁	国際共著
Current Opinion in Plant Biology		有		38	2 0	 1 7 	-	-
掲載論文のDOI	(デジ	タルオブジ:	ェクト記	餓別子)				
10.1016/j.pbi.2017.04.007								
	オープ	ンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難								

著者名			論	文 柞	標	題	【掲	引載確定 】	
	NLR Ioc Arabido		t rade-	off betwee	en abio	otic a	and bio	otic stress adaptat	ion in
雑 誌 名		査読の有無		巻		発行	年	最初と最後の頁	国際共著
Nature Plants		有		3	2		1 1 7 1 7	-	該当する
掲載論文のDOI	(デジク	タルオブジ:	ェクト	識別子)					
なし									
	オープ	ンアクセス							
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難								-	

著 者 名			論	文 標 題	į	
Espinas NA, Saze H, Saijo Y	Epigenet	ic Control	of Defense Signali	ng and Priming	in Plants	
雅 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Frontiers in Plant Science		有	7	2 0 1 1 6	1201	•
掲載論文のDOI((デジタ	'ルオブジ	ェクト識別子)			
10.3389/pls.2016.01201						
7	オープン	/アクセス				
オープンアクセスとしている(また、その予定である)				•		

[学会発表] 計(3)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(2)件

発 表 者 名		発	表 標	題	
Loo EP, Tajima Y, Saijo Y	Polycomb Repressive Co Arabidopsis thaliana	mplex 2 posit	ively regula	ates systemic o	defense priming in
学 会 等 名	発表年月日		発	表場所	
Cold Spring Harbor Asia(国際学会)	2016年11月29日 ~ 2016年12月02日	淡路夢舞台區	国際会議場((兵庫県淡路市	ī)

発表 者名		発	表標	題	
	Histone H3 lysine-4 an priming in Arabidopsis		ansferases	influence systemi	c immunity and
学 会 等 名	発表年月日		発	表場所	
	2016年11月29日 ~ 2016年12月02日	淡路夢舞台国際	祭会議場 (兵庫県淡路市)	

発 表 者 名		発 表	標 題	
Tajima Y, Loo EP, Reimer-Michalski EM, Kracher B, Turck F, Saijo Y	植物免疫におけるヒスト	ン修飾を介したエビ	ジェネティック	7 な遺伝子発現制御機構
学 会 等 名	発表年月日		発 表	場所
第58回日本植物生理学会年会	2017年03月16日 ~ 2017年03月18日	鹿児島大学(鹿児	島県鹿児島市	ī)

[図書] 計(4)件

著 者 名		出	版	社		
Inokuchi, T. and Saijo, Y	Springer					
書名			発征	亍年		総ページ数
Analysis for protein glycosylation of pattern recognition recepto Pattern Recognition Recceptors: Methods and Protocols. Libo Shan	rs in plants (Plant Ed.)	2	0	1	7	8

著 者 名				出 版 社		
Hiruma, K. and Saijo, Y		Springer				
書 1	 참			発行年	総~	ページ数
Plant Inoculation with the Fungal Leaf Pathogen (Colletotrichum	higginsianu	m (Environmental	1 1 1		
Responses in Plants)				i i i		
				2 0 1 1 6		6
				i i i		
± + 4		<u> </u>		ᆈᄔ		
著者名 Hiruma, K. and Saijo, Y		Springer		出版社		
initulia, K. and Sarjo, 1		Spi mger				
				72 /	40	0 2000
	当 (D/DAMD To a day	/F		発行年	総へ	ページ数
Tracing Plant Defense Responses in Roots upon MAN in Plants)	IP/DAMP Treatm	ent (Environ	mental Responses			
,				2 0 1 6		4
						4
				1 ! ! !		
					=	
著 者 名				出 版 社		
Hiruma, K. and Saijo, Y		Springer				
書	<u>ጎ</u>	-		発行年	総へ	ページ数
Methods for Long-Term Stable Storage of Colletotr	ichum Species	(Environmen	tal Responses in	i i i		
Plants)						
				2 0 1 6		4
14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況						
〔出願〕 計(0)件	T					
産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類	魚、番号 出原	額年月日	国内・外国の別
〔取得〕 計(0)件						
産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類	重、番号 取行	导年月日	国内・外国の別
				出原	顯年月日	

15.科研費を使用して開催した国際研究集会

[国際研究集会] 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1)国際共同研究・国際共同研究である

(1)国際共同研究:国際共同研究である						
共同研究相手国	相手方研究機関					
ドイツ	Max Planck Institute	-	-	-		
-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-		
-						

17.備考		