

イネジャスモン酸イソロイシン合成酵素の機能解析

食品安全・機能性開発学講座 機能性食品変換学分野
鈴木絵里香

(背景と目的)

jasmonic acid (JA) は、病傷害などの環境ストレスへの応答や根の伸長、果実や花粉の成熟など植物の生長を制御する植物ホルモンである。JA は、メチル化、脱炭酸、水酸化や各種アミノ酸との接合等の修飾を受け、様々な代謝物に変換される。近年、イソロイシンとの接合体 JA-Ile がシグナル物質として機能し、JA 応答関連遺伝子の発現を促進することが明らかになった。シロイヌナズナでは JAR1 タンパク質が JA-Ile 合成酵素として働く。一方、イネには 3 つの JAR1 ホモログ (*OsJAR1*~*OsJAR3*) が存在するが、これらの機能は不明である。本研究ではこれらのイネ JA-Ile 合成酵素の機能を明らかにすることを目的とした。

(方法・結果および考察)

JAR1 様タンパク質の分子系統解析を行った結果、双子葉サブグループ I と II および単子葉サブグループ I と II の 4 つに分類された。機能既知 JAR1 様タンパク質はすべて双子葉サブグループ I に分類され、双子葉サブグループ II には JA にもオーキシンにも活性を持たないタンパク質が分類された。*OsJAR1* は単子葉サブグループ I、*OsJAR2* および *OsJAR3* はサブグループ II に分類された。*OsJAR1* と *OsJAR2* は葉鞘由来 cDNA を鋳型とした PCR により得られた。*OsJAR3* は、種々の組織由来の cDNA 用いて PCR を行ったが、増幅断片が得られないか、イントロン含有型の不適切なスプライシングによる転写産物しか得られなかったため、機能発現していないと考えられた。*OsJAR1* および *OsJAR2* の遺伝子を導入した大腸菌を 0.1 mM JA を含む培地で培養した。培養液から JA 類を抽出し、UPLC MS/MS により解析したところ、発現ベクターのみを導入した大腸菌の培養液から JA-Ile は検出されなかったが、*OsJAR1* および *OsJAR2* を導入した大腸菌の培養液からは JA-Ile が検出された。このことから、*OsJAR1* および *OsJAR2* が共に JA-Ile 合成酵素をコードすることが明らかになった。

イネの各組織における *OsJAR1* および *OsJAR2* 遺伝子の発現量をリアルタイム PCR により測定した。共に葯において高い発現量が得られたため、シロイヌナズナで確認されているように雄性の稔性に JA シグナルが関与する可能性が示唆された。傷害を与えたイネにおける JA および JA-Ile の内生量は傷害 1 時間後に共に最大となった。この時 *OsJAR1* と *OsJAR2* は傷害 1 時間後と 30 分後にそれぞれ最大となった。いもち病菌を接種したイネにおいては、JA および JA-Ile の内生量は接種 24~72 時間後にかけて増加した。*OsJAR1* の発現量は接種 24~72 時間後にかけて増加したが、*OsJAR2* の発現量に変化は見られなかった。JA 生合成変異株 *hebiba* では光形態形成が起らないことから、光形態形成への JA シグナルの関与が示唆されているため、光形態形成を誘導したイネにおける *OsJAR* の発現量と JA 類を解析した。暗所で生育させたイネ実生に光を照射し、光形態形成を誘導した。*OsJAR1* および *OsJAR2* の発現量は光照射 1 時間後に一過的に増加し、6 時間後に再び増加した。JA の内生量は光照射 3 時間後に最大となったが、JA-Ile の内生量はほとんど変化しなかった。このことから光形態形成において JA-Ile によるシグナル伝達は機能しておらず、*OsJAR1* および *OsJAR2* 遺伝子は転写後制御により不活性化されると考えられた。