

サリチル酸とジャスモン酸シグナルのクロストーク機構の解明

吉村 亮¹, 野元 美佳¹, 多田 安臣^{1,2}

1. 名古屋大学 大学院 理学研究科
〒464-8602 名古屋市千種区不老町

2. 名古屋大学 遺伝子実験施設
〒464-8602 名古屋市千種区不老町

Ryo Yoshimura¹, Mika Nomoto¹, Yasuomi Tada^{1,2}

Reciprocal regulation between salicylate- and jasmonate-responsive transcription factors in plant immunity

Key words: cofactor, cross-talk, plant hormone, signal network, transcription factor

1. Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa, Nagoya, Aichi 464-8602, Japan

2. Center for Gene Research, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa, Nagoya, Aichi 464-8602, Japan

1. はじめに

生物は一生のうちに病原菌による感染、虫害、環境の変化による乾燥、冷害や紫外線等の多種多様なストレスに曝される。しかし、生物がこうした環境下でも生存、成長を維持できるのは、多様な環境情報を統合して対応する手段を有しているためである。我々、哺乳類を含めた動物は逃避によってストレス被害を最小限に留めることができるが、地に根を張って生きる植物は逃避手段を有していないため、動物とは異なる手段を用いて耐性機構を発揮するよう進化した。その代表例の一つとして、植物は環境ストレスを認識すると、各種植物ホルモンシグナルを活性化させる。特に、植物は寄生菌による感染を受けるとサリチル酸 (SA: salicylic acid) と呼ばれる植物固有のホルモンを蓄積し、寄生関係の樹立を阻害する。一方、腐生菌による感染や虫害に対しては、ジャスモン酸 (JA: jasmonic acid) を合成し、JA 依存的な適応能力を誘導する。現在までに、多くの植物ホルモンシグナルは相互作用することが示されており、このことは、植物は多様な環境情報に基づき各情報伝達経路のリプログラミングを行うことを示唆する。SA と JA の相互作用はその代表例であり、本稿では、この複雑な情報伝達ネットワークの理解に向けた新奇な取り組みの一部を紹介する。

2. SA, JA シグナル及びクロストーク制御に関するこれまでの知見

2-1. SA が誘導する適応機構

植物は寄生菌の感染を認識すると、感染部位で活性酸素種や SA の生成を伴う過敏感反応

(HR: hypersensitive response) と称されるプログラム細胞死を誘導し、周辺領域への感染拡大を阻止する (Mur et al. 2008)。更に、被感染細胞の周辺細胞及び遠隔葉では HR によって伝播した全身性の緊急シグナルを感知し、SA の生成、蓄積を介した、全身獲得抵抗性 (SAR: systemic acquired resistance) を誘導することで、二次的な感染に対する防御システムを発揮する (Fu & Dong 2013)。このような SA 依存的な免疫応答の鍵制御因子として、NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1) が同定されており、実際に本因子の機能欠損型変異体 *npr1* では病原菌に対して免疫不全を示すことが報告されている (Cao et al. 1994, Wang et al. 2006)。NPR1 は、SA 応答性遺伝子の 99%以上を調節することから転写因子として機能すると想定されていたが、DNA 結合ドメインを保有せず、一方でタンパク質相互作用に關与する BTB/POZ ドメイン、アンキリンリピートドメイン及び核移行シグナルを有することから (Aravind & Koonin 1999, Cao et al. 1997)、転写補助因子として核内で機能することが予測された。現在までに、NPR1 の発現レベルは病原菌感染等によって大きな変動は認められず、後述のように、その活性化は翻訳後修飾により調節されることが明らかになっている (Fu et al. 2012, Spoel et al. 2009)。

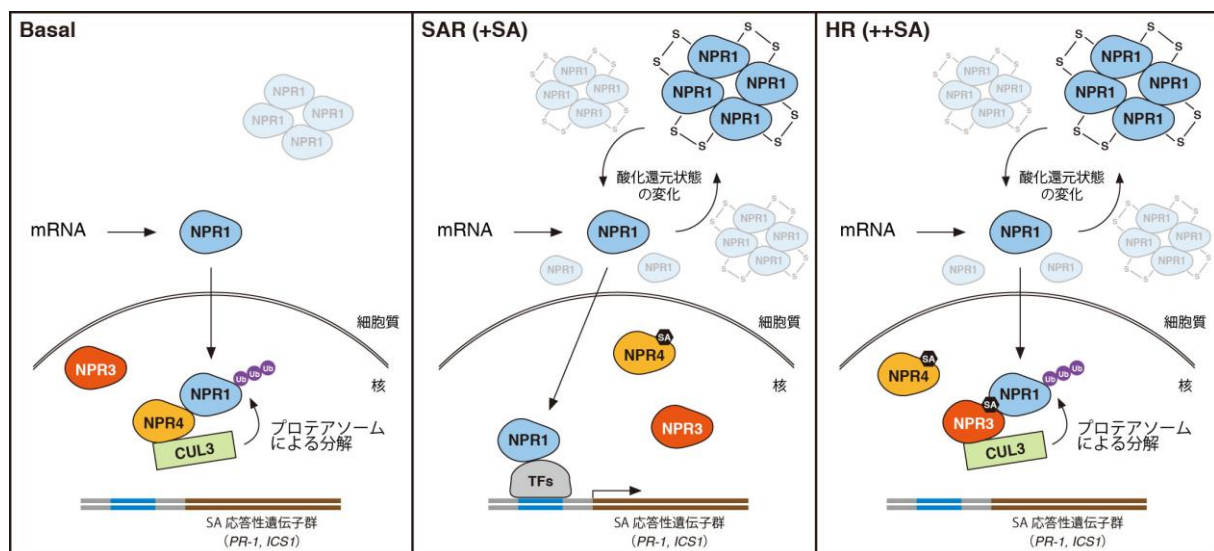


図1 SA シグナルの鍵転写補助因子である NPR1 の活性化モデル

Basal は健常状態であり、NPR1 は Cullin3 (CUL3) 型 E3 ユビキチンリガーゼ複合体のアダプターである NPR4 と結合することで、核内で恒常的に分解される。SAR (+SA) 誘導時には、酸化還元状態の変化により細胞質で蓄積した NPR1 オリゴマーは、モノマーへと還元され、核内に移行する。NPR1 は、TGA 等の標的転写因子 (TFs) を介して SA 応答性遺伝子群の発現を誘導する。HR 領域 (++)SA では、SA と結合した NPR3 が CUL3 のアダプターとして機能することで、NPR1 の分解を誘導する。

図1で示すように、NPR1 はパラログの SA 受容体である NPR3 と NPR4 を介して、Cullin3 (CUL3) 型 E3 ユビキチンリガーゼ複合体により分解制御を受ける。健常状態 (Basal) において、CUL3 のアダプターとして機能する NPR4 は、NPR1 を恒常的に分解誘導する。一方、

病原菌の感染により SA 濃度が上昇した SAR 部位 (+SA) では、酸化還元状態の変化に伴い酸化型オリゴマーが蓄積する。その後、モノマーへと還元された NPR1 は核内に移行し、*Pathogenesis-related* (PR) 遺伝子をはじめとする SA 応答性遺伝子群の発現を誘導する (Després et al. 2000, Saleh et al. 2015, Wang et al. 2006, Zhang et al. 1999)。NPR4 は SA に対する結合能が高く、SAR により蓄積した SA を認識すると、NPR1 との結合能を失う。一方、NPR3 は SA と結合することで NPR1 と相互作用するが、SA に対する結合親和性が低いために、SAR 領域においては NPR1 と強く結合することはない。その結果、SAR 領域において NPR1 は蓄積することになる。病原菌を認識した HR 部位 (++)SA) では高濃度の SA が存在するため、SA を認識した NPR3 は NPR1 の CUL3 のアダプターとして機能し、NPR1 の分解を導く (Fu et al. 2012, Spoel et al. 2009, 野元・多田 2013)。このように、NPR1 は SA 濃度依存的に分解制御を受け、標的遺伝子発現を行っていると考えられる。

2-2. JA が誘導する適応機構

腐生菌による感染や虫害に対して、植物は JA 応答性の情報伝達経路を活性化することが知られている (Howe & Jander 2008)。生成された JA は、JA 受容体である CORONATINE INSENSITIVE1 (COI1) が、JASMONATE ZIM DOMAIN (JAZ) と結合することで下流へとシグナルを伝達する (Chini et al. 2007, Thines et al. 2007)。F-Box タンパク質である COI1 は、26S ユビキチンプロテアソーム系に関わる SCF 複合体を形成するタンパク質の一つであり、ユビキチン化された基質を分解へと導く (Pauwels & Goossens 2011, Xie et al. 1998) (図 2)。一方、JAZ は JA シグナルのアクチベーターである bHLH 型転写因子 MYC2, MYC3 及び MYC4 と結合し、その転写機能を阻害する抑制因子として機能する (Fernandez-Calvo et al. 2011, Zhang et al. 2015)。通常、JAZ は MYC 転写因子群と結合することで JA シグナルを抑制しているが、JA 依存的に COI1 と結合し、引き続くプロテアソーム系を介した分解制御を受ける。その結果、MYC 転写因子群は JAZ による抑制から解除され、MYC 転写因子認識配列である G-box (CACGTG) に結合することで JA 応答性遺伝子群の発現を誘導する。

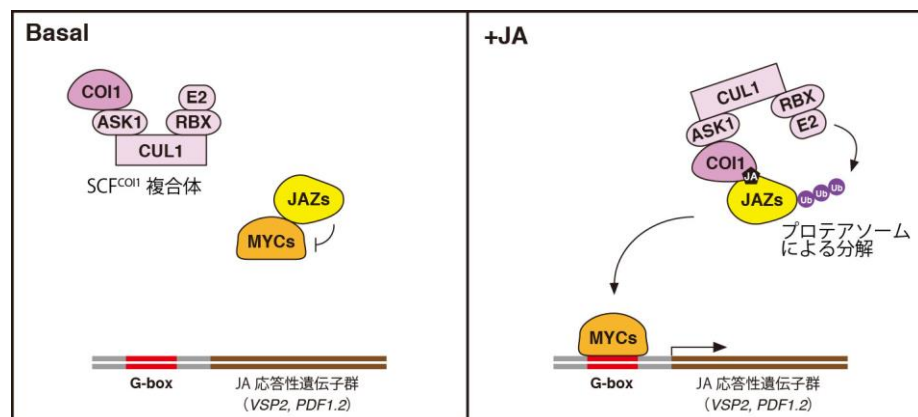


図 2 JAZ リプレッサータンパク質を介した JA シグナルの活性化モデル
Basal は健全状態であり、JAZ タンパク質はアクチベーターの MYC 転写因子群を抑制している。+JA は腐生菌感染時であり、JA 受容体である COI1 を含む SCF^{COI1} 複合体は JAZ を分解し、それにより活性化した MYC 転写因子群によって JA 応答性遺伝子群の発現を誘導する。

2-3. SA と JA シグナルのクロストーク機構

前述のように、植物は各種ホルモンシグナルを活性化させ、病原菌や害虫に対して防御策を講じる。では、多種多様な病害虫による被害が複合的に生じる自然界において、どのような機構により情報を処理するのであろうか。植物は、病原菌や乾燥といった異なるストレスに対して、動的にホルモン量やホルモンシグナルを調節し、外部環境に最適な反応を駆動する。実際、個々のホルモン間でクロストークの存在が認められており、SA と JA のクロストークに関しても同様である。これまで、SA/JA クロストークは環境次第で相乗的に、またある時には拮抗的に干渉し合うと報告されている (Pieterse et al. 2012)。特に、SA が JA 応答を抑制する現象に関しては明らかになりつつあり、SA シグナルの鍵制御因子である NPR1 が JA 応答の抑制に関与することが示された (Spoel et al. 2003)。また、SA が JA 応答の正の転写因子である OCTADECANOID-RESPONSIVE ARABIDOPSIS AP2/ERF domain protein 59 (ORA59) の分解を促進することで、JA 依存的な遺伝子発現を部分的に抑制するといった機構も報告されている (Van der Does et al. 2013)。しかし、SA が NPR1 を用いてどのように JA シグナルを抑制するか、その大部分の分子機構は未解明である。

本稿では、新奇技術基盤を用いることで明らかになった NPR1 の相互作用因子とそれによって解明された SA/JA クロストーク制御機構を紹介する。興味深いことに、JAZ が NPR1 と同様に SA 応答性遺伝子発現を正に制御することも明らかになったので併せて議論する。

3. SAシグナルはNPR1を介してJAシグナルを抑制する

3-1. NPR1はG-boxを介してJA応答性遺伝子群の発現を抑制する

前述のように、転写補助因子である NPR1 は、SA 応答性遺伝子発現の大部分を制御することから (Wang et al. 2006)、NPR1 が標的とする転写因子は多数存在することが示唆されている。即ち、Yeast Two-Hybrid System (Y2H) 等により同定された TGA 転写因子だけでは (Spoel & Dong 2012)、NPR1 の機能を全て説明することは困難であり、従来法とは異なる解析手法を用いた標的転写因子の探索が期待されていた。そこで私たちは、NPR1 依存的な JA 応答の抑制機構を解明するために、新奇無細胞タンパク質合成系を確立し、NPR1 標的転写因子の探索を試みた。

Arabidopsis thaliana の野生型植物 Col-0 に JA を処理して発現誘導される JA 応答性遺伝子群は、SA と JA の共処理時に NPR1 依存的に発現抑制されることが報告されている (Spoel et al. 2003)。従って、NPR1 依存的に発現抑制される JA 応答性遺伝子群のプロモーター上には、NPR1 が標的とする転写因子のシスエレメントが高頻度に出現すると想定される。そこで、本仮説を検証するために、JA 処理または SA/JA 共処理を行った Col-0 及び *npr1-3* の RNA-seq 解析を行った。その結果、Col-0 に JA 処理をして発現する 1774 遺伝子群のうち、289 の JA 応答性遺伝子群が NPR1 依存的に抑制された (図 3A)。次に、当該 289 遺伝子群のプロモーター上に存在する特異的な DNA 結合ドメインを予測するためにプロモーター解析を行った結果 (Yamamoto et al. 2011)、JA シグナルの正の転写因子である MYC 転写因子群が認識する G-box (CACGTG) が NPR1 制御シスエレメントとして検出された。本解析以外にも、シスエレメント解析プログラムである POBO (Kankainen & Holm 2004) 及び Athena (O'Connor et al. 2005) に供試した結果、同様に G-box が統計学的に有意な配列として検出されることを確

認している (図 3B)。このことは、NPR1 が MYC 転写因子と結合し、JA 応答性遺伝子群の発現制御に関与することを示唆する。

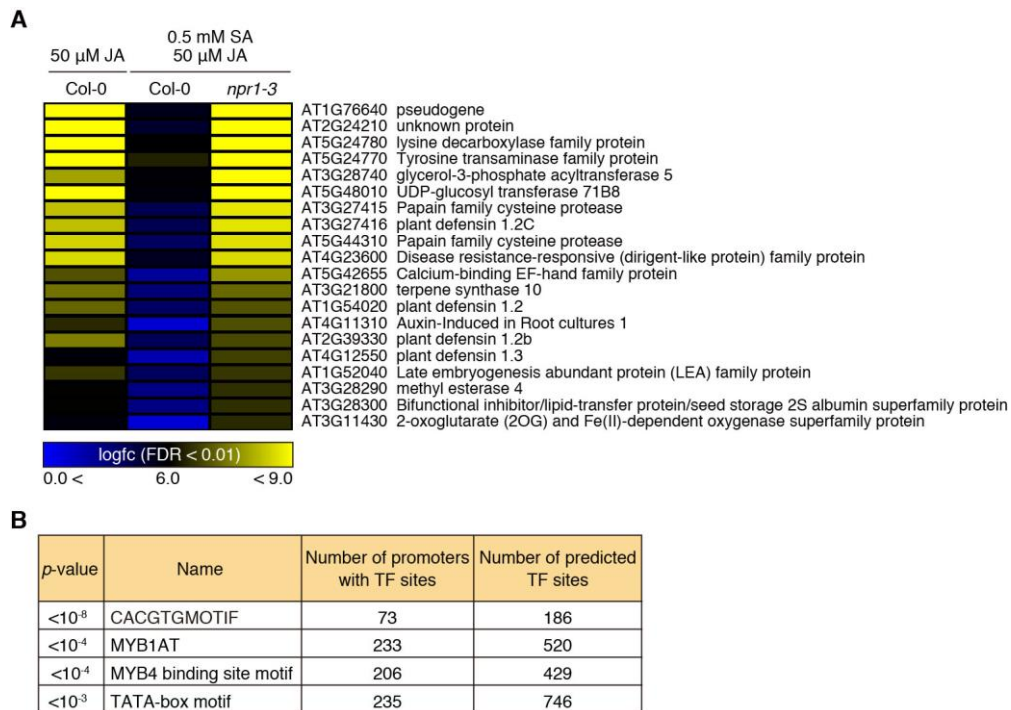


図 3 NPR1 依存的に制御される JA 応答性遺伝子群の選抜とプロモーター解析

A) RNA-seq 解析より、NPR1 依存的に発現抑制される JA 依存的な 289 の遺伝子群を選抜した。選抜した遺伝子群のうち、Col-0 と比較して *npr1-3* において SA/JA 共処理で高発現していた上位 20 の遺伝子群を示す (FDR < 0.01)。Color Scale は log₂ fold-change values を示す。

B) A で選抜した 289 遺伝子群の転写開始点から上位 1000 bp のプロモーターに対して Athena analysis を行った。JA シグナルのアクチベーターである MYC 転写因子群の結合配列 (CACGTG) が高頻度に検出された。

3-2. NPR1 はプロテアソーム系を介した MYC2 の分解を促進する

NPR1 が MYC 転写因子群と直接相互作用するかを検討するために、NPR1 及び MYC2, MYC3, MYC4 転写因子群を無細胞タンパク質合成系により合成し、NPR1-MYC 複合体形成の有無をタンパク質-タンパク質相互作用を検証するための手法である AlphaScreen assay 及び bimolecular fluorescence complementation (BiFC) assay を用いて検証した (図 4A)。その結果、NPR1 はポジティブコントロールとして用いた JAZ1 と同様に (Fernandez-Calvo et al. 2011), 両解析系で MYC と結合することを確認した。

SA と JA シグナルが共存した場合の植物葉では、JAZ の分解により MYC 転写因子群が抑制解除される (Van der Does et al. 2013)。しかし、MYC タンパク質の活性化にも関わらず JA

応答性遺伝子群は発現しないことから、NPR1 による JAZ 標的転写因子群に対するクロストーク制御機構が存在すると考えられていた。NPR1 が JAZ と同様に MYC 転写因子を標的とすると示されたが、どのようにして NPR1 は MYCs の機能阻害を行っているのだろうか。NPR1 が MYC2 の G-box 結合能に影響を与えるかを *in vitro* pull-down assay により検証したが、MYC2 の G-box 結合能は NPR1 の有無にかかわらず一定であった。MYC2 はプロテアソーム系を介した分解制御を受けるタンパク質であり (Zhai et al. 2013), NPR1 は E3 ユビキチンシステムに参与する可能性があるといった知見より (Furniss & Spoel 2015), 次に NPR1 による MYC2 の分解制御の可能性を調査した。MYC2-GFP を発現させた Col-0 及び *npr1-3* に JA 及び SA/JA 共処理を行い、MYC2 のユビキチン化を評価したところ、NPR1 依存的に MYC2 はユビキチン化されることが明らかになった。つまり、NPR1 は MYC2 のユビキチン化とプロテアソーム系を介した分解を促すことで JA 応答を抑制することが示唆された (図 4B)。

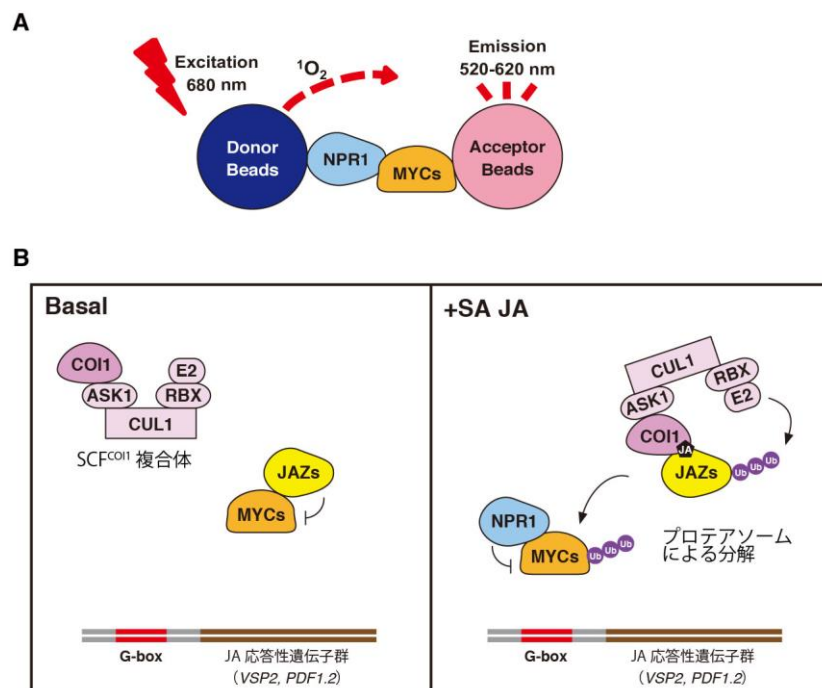


図 4 NPR1 は MYC 転写因子群を介して JA シグナルを抑制する

A) AlphaScreen システムの原理: NPR1 はビオチン化タグが付加されており、ストレプトアビジンビーズ (Donor beads) が特異的に結合する。一方、MYC 転写因子は FLAG タグを持つので、抗 FLAG 抗体ビーズ (Acceptor beads) が結合する。Donor beads が 680 nm の光で励起されると、一重項酸素が発生し、これにより Acceptor beads が 520-620 nm の発光を示す。

B) Basal は JAZ リプレッサータンパク質が MYC 転写因子群を抑制している。SA/JA 共処理時において、JAZ の分解により MYC タンパク質が抑制解除されるが、活性化した NPR1 と結合し、結果として JA シグナルは抑制される。

4. JAZ は NPR1 と同様に SA シグナルのポジティブレギュレーターとしても機能する

4-1. JAZはSA応答性遺伝子群の発現を促進する

SAによるJA応答の抑制は、転写補助因子であるNPR1がMYC2を標的として生じることから、JAシグナルにおける転写補助因子JAZは、NPR1と同一の転写因子を標的とするという仮説を立てた。そこで、まずJAZ依存的な遺伝子発現プロファイルを得るために、Col-0, *npr1-3*, JAZ3タンパク質がJA依存的な分解を受けない35S::*JAI3* ΔC及び*jai3-1*植物にSAを処理し (Chini et al. 2007), RNA-seq解析を行った。その結果、SA処理によってNPR1依存的な発現誘導を示す遺伝子のうち、35S::*JAI3* ΔCでは109の遺伝子が、また*jai3-1*で173の遺伝子がCol-0より高発現していた。これらのNPR1/JAZ依存的な遺伝子群には、*PR-1*や*PR-2*を始めとするSA応答性遺伝子が含まれており、JAZがSA誘導性の遺伝子発現機構を正に調節する可能性が示された。また、病原性細菌である*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (Psm ES4326)をCol-0, *jai3-1*及び*npr1-3*に接種し、3日後に病徴を観察した結果、Col-0と比較して*jai3-1*では葉の黄化が抑制されていた (図5A)。更に、*jai3-1*及びCol-0の半葉にPsm ES4326を接種し、未接種葉での*PR-1*発現量を調査したところ、*jai3-1*ではCol-0と比較してSA応答性遺伝子の発現量の増加が認められた。このことから、病原菌感染におけるSA依存的な免疫応答にもJAZはコアクチベーターとして機能することを確認した。興味深いことに、*jai3-1 npr1-3*の二重変異体では、*PR-1*や*WRKY38*の発現、更にはPsm ES4326に対する抵抗性は全く誘導されず、*npr1-3*と同等の表現型を示した (図5B)。以上の結果より、JAZのポジティブレギュレーターとしての機能はNPR1依存的であることが示唆された。

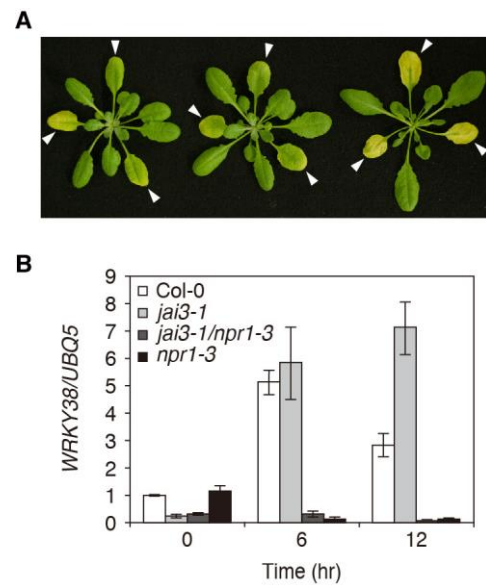


図5 JAZはSAシグナルのコアクチベーターとして機能する

A) Col-0, *jai3-1* 及び *npr1-3* に Psm ES4326 (OD₆₀₀=0.001) を接種し、3日後の病徴を観察した。

B) Col-0, *jai3-1*, *jai3-1/npr1-3* 及び *npr1-3* に 0.5 mM SA を処理し、SA 応答性遺伝子である *WRKY38* の発現を確認した。エラーバーはSDを示す (n=3)。

4-2. JAZはNPR1と同様にWRKYのW-box結合能を阻害する

上述したRNA-seq解析より、NPR1/JAZ依存的に制御される遺伝子群のプロモーター上にはNPR1及びJAZが制御する転写因子の認識配列が高頻度に出現すると考えられる。そこで、選抜した109及び173遺伝子に対してプロモーター解析を行った結果、WRKY転写因子が認識するW-box (TTGAC)が高頻度に出現することを明らかにした。WRKYは植物特有の転写因子ファミリーであり、いくつかのWRKYはSAやJA応答性の遺伝子発現の促進や抑制に関わる重要な転写因子であることが報告されているが (Rushton et al. 2010), その転写活性機構は不明な点が多い。上述のように、NPR1とJAZの両制御因子がWRKYの転写活性を調

節することが示唆されたため、NPR1、JAZ 及び WRKY 転写因子群を用いた相互作用スクリーニングを行った。

Arabidopsis thaliana には、74 の WRKY 転写因子が報告されており (Rushton et al. 2010), その中でも葉で恒常的に発現しているもの、または SA 及び JA 処理により発現誘導される 51 の WRKY タンパク質を無細胞タンパク質合成系により作成し、AlphaScreen assay に供試した。その結果、NPR1 は SA シグナルのリプレッサーとして知られる WRKY11, WRKY17 及び WRKY70 と結合することを明らかにした (Journot-Catalino et al. 2006, Wang et al. 2006)。一方、SA 応答のアクチベーターである WRKY18 (Wang et al. 2006) とは相互作用する可能性が低いことが示唆された。

次に、JAZ と 51 の WRKY 転写因子群の相互作用を同手法で検証したところ、興味深いことに、JAZ は NPR1 と同種の WRKY を標的とすることが示された。本相互作用は BiFC assay を用いた *in vivo* においても確認していることから、SA シグナルの活性化機構の本質は、NPR1/JAZ タンパク質によるリプレッサー WRKY タンパク質の機能抑制であることが考えられる。実際に、NPR1 と JAZ が WRKY の DNA 結合能に与える影響を検討するために、WRKY70 及び WRKY18 と W-box を用いて、3-2 と同様に *in vitro* pull-down assay を行った。その結果、NPR1 及び JAZ は WRKY70 の W-box 結合能を量依存的に抑制することが明らかになった。また、NPR1/JAZ は *in vitro* で WRKY18 に結合しないため、WRKY18 の DNA 結合能にも影響を与えなかった。図 6 に示すように、NPR1 と JAZ は協調的に WRKY70 等のリプレッサー WRKY タンパク質の DNA 結合能を阻害することで、SA 応答を正に制御することが示唆された。

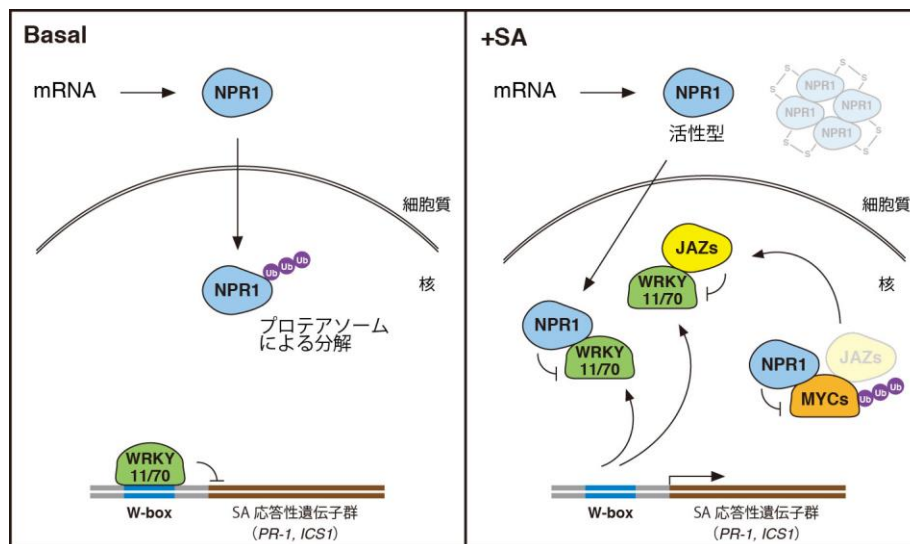


図 6 NPR1 と JAZ タンパク質を介した SA シグナルの活性化モデル

Basal は健全状態であり、NPR1 は恒常的に分解されている。SA シグナルのリプレッサー WRKY 転写因子群により、SA 応答性の遺伝子発現は抑制されている。+SA は病原菌感染時であり、活性化した NPR1 は、リプレッサー WRKY の W-box 結合能を抑制することで、SA 応答性遺伝子群の発現を誘導する。大量に存在する NPR1 が MYC 転写因子とも結合することにより、遊離した JAZ タンパク質も NPR1 と同様にリプレッサー WRKY を標的としたコアクチベーターとして機能すると示唆される。

5. まとめと今後の展望

植物は、多様な環境刺激に対応する個々のシグナル伝達経路を、統合制御することで自身を守っている。この複合的な情報ネットワークの解明は極めて重要な課題であるが、その理解は不十分である。

本稿では、NPR1 及び JAZ が転写コンテキスト依存的に機能転換し、SA/JA シグナルを制御する分子機構を紹介した。即ち、SA 応答の鍵転写補助因子である NPR1 は、JA シグナルのアクチベーターである MYC 転写因子群の機能を抑制し、JAZ リプレッサータンパク質と同様にコリプレッサーとして機能することを明らかにした。一方、NPR1 と JAZ タンパク質の両方が、リプレッサー WRKY 転写因子を標的とし、SA 応答性遺伝子発現を促進するアクチベーターとして機能することも明らかになった。このような主要制御因子を介した各情報伝達経路のリプログラミングは、SA/JA シグナルのみに見られる特徴的な機構であろうか。私たちは、ホルモクロストークの理解の一端として、アブシシン酸 (ABA: abscisic acid) の応答経路に SA が及ぼす作用の検証も行っている。遺伝学的及び生化学的解析から、ABA 応答性遺伝子群の発現が SA 及び NPR1 依存的に制御されることが示唆された。このように NPR1 及び JAZ を始め、各情報伝達経路の鍵制御因子を介したシグナルネットワークのリプログラミングは、植物における環境応答の分子基盤ではないかと考えられる。

謝辞

本稿で紹介した研究は、文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究「植物の環境感覚：刺激需要から細胞応答まで」、及び「植物の成長可塑性を支える環境認識と記憶の自律分散型統御システム」の支援を得て遂行した。

引用文献

- Aravind, L., & Koonin, E.V. 1999. Fold prediction and evolutionary analysis of the POZ domain: structural and evolutionary relationship with the potassium channel tetramerization domain. *J Mol Biol* 285: 1353-1361.
- Cao, H., Bowling, S.A., Gordon, A.S., & Dong, X. 1994. Characterization of an Arabidopsis Mutant That is Nonresponsive to Inducers of Systemic Acquired Resistance. *The Plant Cell* 6: 1583-1592.
- Cao, H., Glazebrook, J., Clarke, J.D., Volko, S., & Dong, X.N. 1997. The Arabidopsis NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. *Cell* 88: 57-63.
- Chini, A., Fonseca, S., Fernandez, G., Adie, B., Chico, J.M., Lorenzo, O., Garcia-Casado, G., Lopez-Vidriero, I., Lozano, F.M., Ponce, M.R., Micol, J.L., & Solano, R. 2007. The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling. *Nature* 448: 666-671.
- Després, C., DeLong, C., Glaze, S., Liu, E., & Fobert, P.R. 2000. The Arabidopsis NPR1/NIM1 protein enhances the DNA binding activity of a subgroup of the TGA family of bZIP transcription factors. *Plant Cell* 12: 279-290.

- Fernandez-Calvo, P., Chini, A., Fernandez-Barbero, G., Chico, J.M., Gimenez-Ibanez, S., Geerinck, J., Eeckhout, D., Schweizer, F., Godoy, M., Franco-Zorrilla, J.M., Pauwels, L., Witters, E., Puga, M.I., Paz-Ares, J., Goossens, A., Reymond, P., De Jaeger, G., & Solano, R. 2011. The Arabidopsis bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses. *Plant Cell* 23: 701-715.
- Fu, Z.Q., & Dong, X. 2013. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annual review of plant biology* 64: 839-863.
- Fu, Z.Q., Yan, S., Saleh, A., Wang, W., Ruble, J., Oka, N., Mohan, R., Spoel, S.H., Tada, Y., Zheng, N., & Dong, X. 2012. NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486: 228-232.
- Furniss, J.J., & Spoel, S.H. 2015. Cullin-RING ubiquitin ligases in salicylic acid-mediated plant immune signaling. *Frontiers in plant science* 6: 154.
- Howe, G.A., & Jander, G. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual review of plant biology* 59: 41-66.
- Journot-Catalino, N., Somssich, I.E., Roby, D., & Kroj, T. 2006. The transcription factors WRKY11 and WRKY17 act as negative regulators of basal resistance in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell* 18: 3289-3302.
- Kankainen, M., & Holm, L. 2004. POBO, transcription factor binding site verification with bootstrapping. *Nucleic Acids Res* 32: W222-229.
- Mou, Z., Fan, W., & Dong, X. 2003. Inducers of Plant Systemic Acquired Resistance Regulate NPR1 Function through Redox Changes. *Cell* 113: 935-944.
- Mur, L.A., Kenton, P., Lloyd, A.J., Ougham, H., & Prats, E. 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? *J Exp Bot* 59: 501-520.
- 野元美佳 多田安臣 2013. サリチル酸受容体の発見 「NPR1 と同パラログによる植物免疫応答機構」 *化学と生物* 51: 728-729
- O'Connor, T.R., Dyreson, C., & Wyrick, J.J. 2005. Athena: a resource for rapid visualization and systematic analysis of Arabidopsis promoter sequences. *Bioinformatics* 21: 4411-4413.
- Pauwels, L., & Goossens, A. 2011. The JAZ proteins: a crucial interface in the jasmonate signaling cascade. *Plant Cell* 23: 3089-3100.
- Pieterse, C.M., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., & Van Wees, S.C. 2012. Hormonal modulation of plant immunity. *Annu Rev Cell Dev Biol* 28: 489-521.
- Rushton, P.J., Somssich, I.E., Ringler, P., & Shen, Q.J. 2010. WRKY transcription factors. *Trends Plant Sci* 15: 247-258.
- Saleh, A., Withers, J., Mohan, R., Marques, J., Gu, Y., Yan, S., Zavaliev, R., Nomoto, M., Tada, Y., & Dong, X. 2015. Posttranslational Modifications of the Master Transcriptional Regulator NPR1 Enable Dynamic but Tight Control of Plant Immune Responses. *Cell Host Microbe* 18: 169-182.
- Spoel, S.H., & Dong, X. 2012. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature reviews. Immunology* 12: 89-100.
- Spoel, S.H., Koornneef, A., Claessens, S.M.C., Korzelius, J.P., Van Pelt, J.A., Mueller, M.J., Buchala,

- A.J., Mettraux, J.P., Brown, R., Kazan, K., Van Loon, L.C., Dong, X.N., & Pieterse, C.M.J. 2003. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. *Plant Cell* 15: 760-770.
- Spoel, S.H., Mou, Z., Tada, Y., Spivey, N.W., Genschik, P., & Dong, X. 2009. Proteasome-mediated turnover of the transcription coactivator NPR1 plays dual roles in regulating plant immunity. *Cell* 137: 860-872.
- Tada, Y., Spoel, S.H., Pajerowska-Mukhtar, K., Mou, Z., Song, J., Wang, C., Zuo, J., & Dong, X. 2008. Plant immunity requires conformational changes [corrected] of NPR1 via S-nitrosylation and thioredoxins. *Science* 321: 952-956.
- Thines, B., Katsir, L., Melotto, M., Niu, Y., Mandaokar, A., Liu, G., Nomura, K., He, S.Y., Howe, G.A., & Browse, J. 2007. JAZ repressor proteins are targets of the SCF(COI1) complex during jasmonate signalling. *Nature* 448: 661-665.
- Van der Does, D., Leon-Reyes, A., Koornneef, A., Van Verk, M.C., Rodenburg, N., Pauwels, L., Goossens, A., Korbes, A.P., Memelink, J., Ritsema, T., Van Wees, S.C., & Pieterse, C.M. 2013. Salicylic acid suppresses jasmonic acid signaling downstream of SCFCOI1-JAZ by targeting GCC promoter motifs via transcription factor ORA59. *Plant Cell* 25: 744-761.
- Wang, D., Amornsiripanitch, N., & Dong, X. 2006. A genomic approach to identify regulatory nodes in the transcriptional network of systemic acquired resistance in plants. *PLoS Pathog* 2: e123.
- Xie, D.-X., Feys, B.F., James, S., Nieto-Rostro, M., & Turner, J.G. 1998. COI1: An Arabidopsis Gene Required for Jasmonate-Regulated Defense and Fertility. *Science* 280: 1091-1094.
- Yamamoto, Y.Y., Yoshioka, Y., Hyakumachi, M., Maruyama, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Tokizawa, M., & Koyama, H. 2011. Prediction of transcriptional regulatory elements for plant hormone responses based on microarray data. *BMC Plant Biol* 11: 39.
- Zhai, Q., Yan, L., Tan, D., Chen, R., Sun, J., Gao, L., Dong, M.Q., Wang, Y., & Li, C. 2013. Phosphorylation-coupled proteolysis of the transcription factor MYC2 is important for jasmonate-signaled plant immunity. *PLoS Genet* 9: e1003422.
- Zhang, F., Yao, J., Ke, J., Zhang, L., Lam, V.Q., Xin, X.F., Zhou, X.E., Chen, J., Brunzelle, J., Griffin, P.R., Zhou, M., Xu, H.E., Melcher, K., & He, S.Y. 2015. Structural basis of JAZ repression of MYC transcription factors in jasmonate signalling. *Nature* 525: 269-273.
- Zhang, Y.L., Fan, W.H., Kinkema, M., Li, X., & Dong, X.N. 1999. Interaction of NPR1 with basic leucine zipper protein transcription factors that bind sequences required for salicylic acid induction of the PR-1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 6523-6528.