

植物微生物相互作用におけるサリチル酸生合成と代謝

石濱 伸明・白須 賢

理化学研究所環境資源科学研究センター

Salicylic acid biosynthesis and metabolism in plant-microbe interactions

Nobuaki Ishihama and Ken Shirasu

RIKEN Center for Sustainable Resource Science

要旨: Salicylic acid (SA) is a phenolic compound that has been recognized as a plant hormone, playing a key role in the activation of defense responses after pathogen infection. Two SA biosynthesis pathways have been proposed in plants; one via phenylalanine and the other via isochorismic acid. Once plants synthesize SA to activate defense response, most of SA can be converted to SA metabolites. These SA metabolites may have distinct roles in plants, such as inactivation of SA signaling and long distance propagation of defense signaling. In addition, some plant pathogens can modulate host SA biosynthesis pathway by enzymatic effectors that metabolize SA precursors leading to less SA accumulation. As SA is a critical component in plant immunity, disrupting SA biosynthesis can be a common infection strategy for plant pathogens. Here we review our current knowledge and recent progress on the biosynthesis and metabolism of SA during plant-microbe interactions.

はじめに

サリチル酸 (salicylic acid, SA) は、植物が生合成するフェノール化合物の一種で、鎮痛作用をもつ治療薬として古くから利用されてきた。古代ギリシアの医師ヒポクラテスが、SA 誘導体を多く含むヤナギの葉を分娩時の痛みを和らげるため用いた記録も残っている (Raskin 1992)。長らく、植物が蓄積する二次代謝産物の一つとみなされていた SA であったが、1979 年に SA を処理したタバコにおいて、タバコモザイクウイルス (Tobacco mosaic virus; TMV) に対する抵抗性が高まることを見出されたことを機に、SA が植物内生の情報伝達分子である可能性が議論されるようになった (White 1979)。その後、SA が病原菌感染に伴って増加すること、SA 蓄積が抵抗反応に必須であること、および SA 存在下で抵抗反応が増強されること等が次々と明らかになり (Malamy et al. 1990; Delaney et al. 1994; Shirasu et al. 1997)、SA は病害応答を誘導する情報伝達分子として広く認知されるようになった。研究の進展に伴い、SA が乾燥や寒冷などの環境ストレス応答や生育の制御にも関与することが明らかとなり (Miura and Tada 2014)、現在では SA は植物ホルモンの一つとして考えられている。

これまでに、恒常的に防御応答が活性化するシロイヌナズナ変異体が数多く単離されているが、その多くが矮性の表現型を示す。これらの変異体では、恒常的な SA に依存した情報伝達の活性化がみられることが多く、過剰な SA 蓄積が植物の栄養成長に負の影響を与えることが知られている。防御応答の活性化に伴う生育の抑制は、一方を追及

すると他方が犠牲になるという意味の“トレードオフ”の概念で議論されることが多い (Huot et al. 2014)。SA は、防御応答を誘導し病原菌の攻撃から植物の身を守る一方で、植物の生育に阻害的に作用する諸刃の剣のような性質を持っているといえる。

植物は活性型と考えられる遊離 SA だけでなく、配糖体などの SA 誘導体を生合成する能力を備えている。これまでの研究から、SA の誘導体化は SA 情報伝達強度の最適化や、移行シグナルへの変換等の役割を持つことが明らかとなってきた。また、いくつかの植物病原菌において、特定の酵素活性を持った病原性因子エフェクターによって SA 生合成を積極的に阻害していることがわかってきた。これは、植物における SA 蓄積およびそれに伴う SA 情報伝達の活性化が、病原菌の感染において大きな障壁となっていることを示唆している。本稿では、植物-病原菌相互作用における SA の生合成と代謝に焦点を置き、最新の知見を紹介する。いかにして植物が SA に依存した情報伝達の活性化レベルを最適化するのか、また、いかにして病原菌がそれを阻害するのかを解説したい。

1. 植物における SA 生合成経路

植物における SA 生合成に関しては、これまでに二つの異なる経路が報告されている。一つは、phenylalanine から *trans*-cinnamic acid そして benzoic acid を経由して生合成される phenylalanine ammonia-lyase (PAL) 経路で、もう一つが chorismic acid から isochorismic acid を経由して生合成される isochorismate synthase (ICS) 経路である (図 1)。PAL 経路では phenylalanine のアミノ基が PAL により

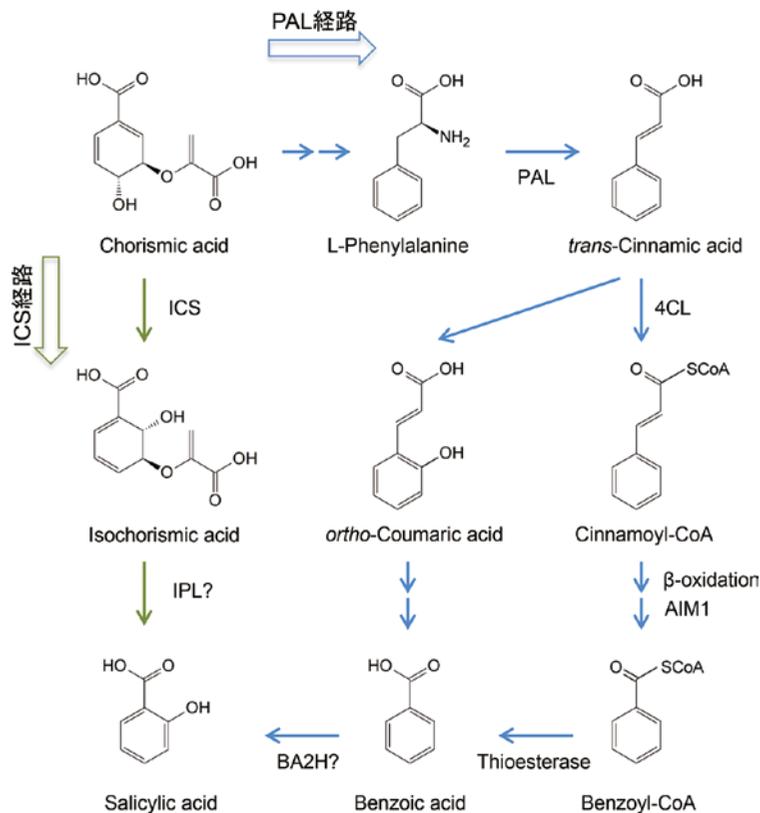


図1 植物のサリチル酸合成経路

除かれ, *trans*-cinnamic acid に変換される. 実際に, TMV 抵抗性タバコでは, その接種に対して phenylalanine および *trans*-cinnamic acid が SA に迅速に変換されることが, ^{14}C 標識化合物を用いた実験により示されている (Dempsey et al. 2011). *trans*-cinnamic acid から benzoic acid に至るまでの経路としては, *ortho*-coumaric acid を経由する経路と cinnamoyl-CoA を経由する経路の二つが考えられている (Dempsey et al. 2011). cinnamoyl-CoA を経由する経路では, *trans*-cinnamic acid は cinnamoyl-CoA に変換され, その後 β 酸化を受け, benzoyl-CoA が生成される. この β 酸化に関わる 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase をコードする遺伝子 *ABNORMAL INFLORESCENCE MERISTEM 1* (*AIM1*) を欠損したシロイヌナズナ変異体では, 種子における SA 蓄積量が野生型の約半量程度まで減少する (Bussell et al. 2014). 同様に, イネ *aim1* 変異体では, 根における cinnamoyl-CoA 蓄積量が増大し, SA 蓄積量が減少する (Xu et al. 2017). benzoyl-CoA から benzoic acid を生成する反応には, thioesterase 活性を持つ酵素の関与が考えられ, 実際にシロイヌナズナにおいて 1,4-dihydroxy-2-naphthoyl-CoA thioesterase1 (*DHNAT1*) と *DHNAT2* が benzoyl-CoA から benzoic acid を生成する酵素として同定されているが, これら酵素の SA 生合成への関与は未だ不明である (Widhalm et al. 2012). また, TMV に感染したタバコの葉では, 内

生の benzoic acid-2-hydroxylase (*BA2H*) 活性が高まることから, benzoic acid から SA に至る反応には *BA2H* の関与が考えられているが, 現在までのところ *BA2H* の同定には至っていない (Dempsey et al. 2011).

ICS 経路に関しては, chorismic acid から isochorismic acid を生成する *ICS1* と *ICS2* がシロイヌナズナで同定されている (図1). *ics1* 変異体では, 病原菌接種後の SA 量が野生型と比較して 5~10% 程度に低下する (Wildermuth et al. 2001). これに対して, *ics2* 変異体では野生型と比較して SA 蓄積量に明瞭な差はないが, *ics1/ics2* 二重変異体では, *ics1* 単独変異体と比較してより SA 蓄積量が低下する (Garcion et al. 2008). つまり, シロイヌナズナの ICS 経路では, *ICS1* と *ICS2* の間で一部機能重複があるものの, *ICS1* が中心的な働きをすると考えられる. ICS は *Pseudomonas aeruginosa* や *P. fluorescens* 等の細菌にも存在することが知られているが, これらの菌では, chorismic acid から生成された isochorismic acid は isochorismate pyruvate lyase (*IPL*) により SA と pyruvic acid へと変換される. 興味深いことに, *Yersinia enterocolitica* や *Mycobacterium tuberculosis* 等の細菌では, ICS と *IPL* 活性を持った SA synthase を有しており, 二つの反応を一つの酵素タンパク質で進行させる (Dempsey et al. 2011). しかしながら, シロイヌナズナゲノム中に細菌型 *IPL* に相同性を示す遺伝子が

存在しないことから、isochorismic acid から SA に至る経路において、植物特有の反応機構が存在する可能性が予想される。

ICS 経路と PAL 経路の関係性については、まだ不明な点が多い。前述の通り、シロイヌナズナの *ics1* 変異体では SA 蓄積量が野生型の 10% 未満まで低下するため、ICS 経路の SA 生合成における重要性は明白である (Wildermuth et al. 2001)。しかしながら、シロイヌナズナが持つすべての *PAL* 遺伝子を欠損した *pal* 四重変異体においても、SA 蓄積量が野生型の約 25% 程度まで減少した (Huang et al. 2010)。ダイズにおいても、病原菌接種後の SA 蓄積量の増加に、ICS 経路と PAL 経路の双方が必要であることが報告されている (Shine et al. 2016)。PAL ある

いは ICS の欠損により増加する代謝物が、何らかのメカニズムで SA 生合成系に負の影響を与える等の可能性が議論されている (Shine et al. 2016)。

2. 植物による SA 代謝

2.1 SA の配糖体化

SA の配糖体には、ヒドロキシル基に glucose が結合した salicylic acid 2-O- β -D-glucoside (SAG) と、カルボニル基に glucose が結合した salicylic acid glucose ester (SGE) が存在する (図 2)。SA の配糖体化は、uridine diphosphate (UDP)-glucose から SA に糖を転移する SA glucosyltransferase により行われる。シロイヌナズナでは、UGT74F1, UGT74F2 および UGT76B1 が SAG 合成に関わる酵素として同定されている (Lim et al. 2002; Noutoshi et al. 2012)。

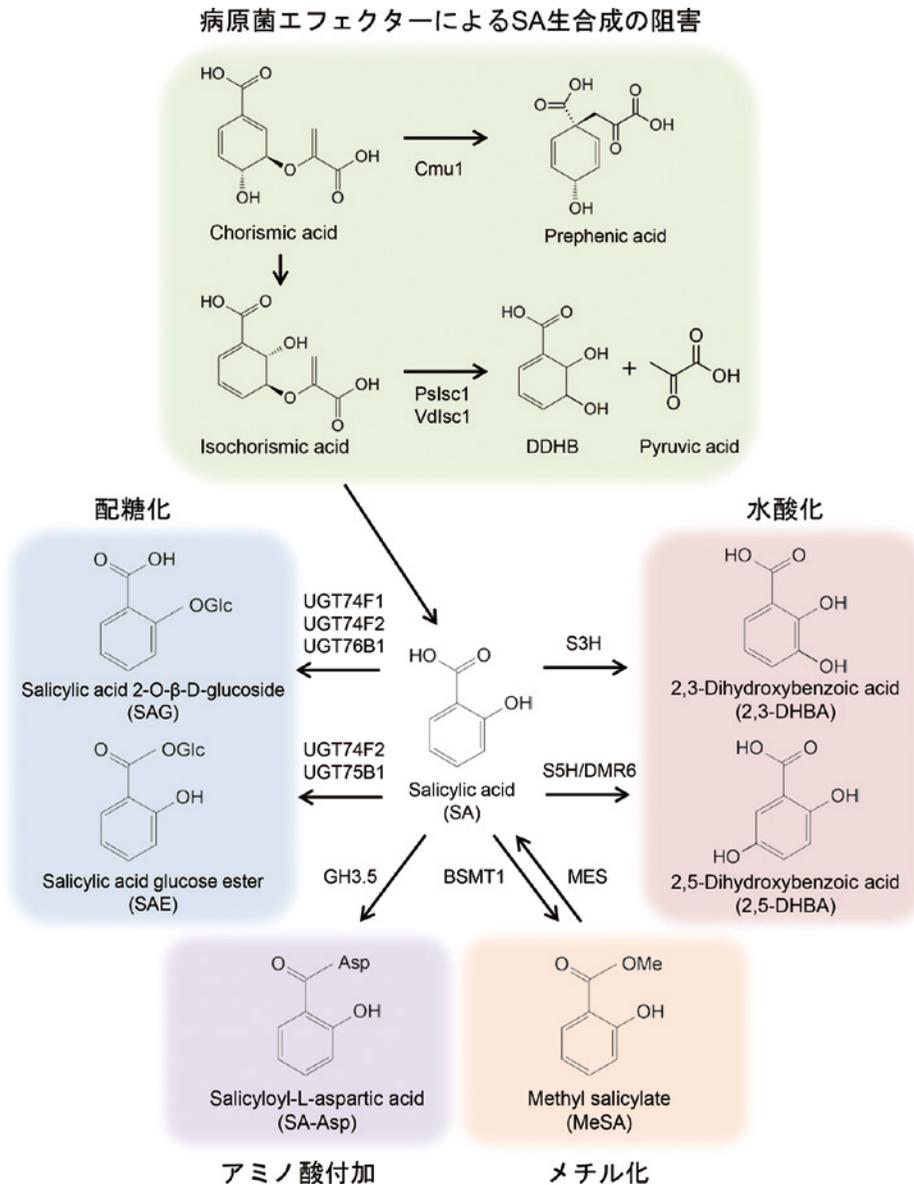


図 2 SA の誘導體

UGT74F1 あるいは *UGT76B1* を欠損したシロイヌナズナ変異体では、恒常的に遊離 SA 量が増加し、病原細菌に対する抵抗性が亢進した (Noutoshi et al. 2012). *ugt74f1ugt76b1* 二重変異体では、それぞれの単独変異体よりも表現型が強まる傾向がみられることから、SA からの SAG 合成において、*UGT74F1* と *UGT76B1* が重複した役割を持つと考えられる (Noutoshi et al. 2012). SA から SGE を *in vitro* で合成する酵素としては、*UGT74F2* と *UGT75B1* が同定されている (Lim et al. 2002). *UGT74F2* を欠損したシロイヌナズナ変異体において、SA 処理後に合成される SGE の量が顕著に減少したことから、*UGT74F2* が SGE 合成において中心的な働きを持つことが示されている (Dean and Delaney 2008). また、生成された SAG は主に液胞に蓄積する一方で、SGE は細胞質に蓄積することが報告されている (Dean et al. 2005; Vaca et al. 2017). SA の配糖化には、遊離 SA が持つ生物活性の不活性化や、より親水性を高めることによる生体膜を超えた拡散の抑制などの役割が考えられる (Vaca et al. 2017).

2.2 SA のメチル化

SA のメチルエステル化は Benzoic acid/Salicylic acid carboxyl methyltransferase 1 (BSMT1) により行われ、付加されるメチル基は *S*-adenosyl methionine から供給される (図 2). ^{14}C 標識されたメチルサリチル酸 (MeSA) を処理したタバコ葉では、その 93% が遊離 SA に変換されることから、SA のメチルエステル化は植物体内で可逆的な反応であると考えられる (Dempsey et al. 2011). 逆の反応である MeSA の加水分解は methyl esterase (MES) によって行われる. シロイヌナズナゲノム中には、18 個の *MES* 遺伝子が見出されており、そのうちの 5 つが *in vitro* で MeSA を加水分解することが報告されている (Vlot et al. 2008). MeSA をタバコに処理すると、SA 応答のマーカー遺伝子 *PRI* の発現が誘導されたが、SA を分解する酵素遺伝子 *NahG* を導入したタバコでは、*PRI* の発現誘導はみられなかった (Seskar et al. 1998). これより、MeSA そのものは生物学的に不活性であると考えられる.

MeSA は揮発性化合物であり、傷害等により組織が損傷すると植物体外へ放出され、同一個体内および植物個体間で働く移動性シグナルとして機能する. TMV 感染により、自律的な細胞死を伴った抵抗反応である過敏感反応が誘導されたタバコ葉からも MeSA が空气中に放出される. 放出された MeSA は、近隣の他のタバコ個体の防御応答を活性化する (Shulaev et al. 1997). また、食植生昆虫の食害を受けた植物から放出された MeSA が食害昆虫の天敵を誘引する効果が報告されており (Van Poecke et al. 2001), MeSA の食害に対する防御反応への間接的な寄与が推察される.

植物は感染を試みる病原菌に対して感染部位局所的に抵

抗反応を誘導することで、感染の成立を阻止している. この際、植物体全身に抵抗性を誘導するシグナルが発信されることが知られており、この植物体全身で誘導される抵抗性を全身獲得抵抗性 (Systemic acquired resistance, SAR) と呼ぶ. Park et al. (2007) により、MeSA が SAR の移行シグナル本体である可能性が報告された. 彼らの説では、病原菌感染部位で合成された SA は、MeSA に変換された後、師部を経由して植物個体全身に移行する. そして、移行先の組織において、MeSA はタバコの MES である NtSABP2 により SA に再変換され、その SA により防御応答が活性化する. その一方で、別の研究グループからは、MeSA を蓄積しないシロイヌナズナ *bsmt1* 変異体でも SAR が誘導されたという報告がなされた (Attaran et al. 2009). これまでに SAR 誘導に関わるシグナル分子として、azelaic acid, pipercolic acid および glycerol-3-phosphate なども報告されていることから、MeSA を含む複数のシグナル分子が SAR の誘導に関与する可能性が考えられる (Gao et al. 2014).

2.3 SA のアミノ酸付加

植物ホルモンであるジャスモン酸やオーキシンでは、アミノ酸を付加されたアミノ酸抱合体が植物体内で生合成されることが知られており、それらは遊離の化合物とは異なる生理作用を持つ (Westfall et al. 2010). SA においても、aspartic acid が付加された誘導體 salicyloyl-L-aspartic acid (SA-Asp) が植物体内で生合成される (図 2) (Zhang et al. 2007). シロイヌナズナに SA-Asp を処理すると、*PRI* 遺伝子の発現誘導や、病原細菌に対する抵抗性が亢進されるが、その生物活性は同濃度の遊離 SA と比べると非常に低いものであった (Chen et al. 2013). SA-Asp 処理後もシロイヌナズナ生体内の SA 量の顕著な増加は観察されておらず、SA-Asp が加水分解されて SA に変換される経路は見つかっていない (Chen et al. 2013). SA に aspartic acid を付加する酵素としては、シロイヌナズナの GH3 酵素ファミリーに属する GH3.5 が同定されている (Zhang et al. 2007). GH3.5 は、アデニル化とアミノ酸転移の二段階の酵素反応で SA のカルボニル基に aspartic acid を付加する. GH3.5 を過剰発現させたシロイヌナズナでは、病原細菌感染時の SA-Asp 蓄積量が増加する. しかしながら、GH3.5 を欠損したシロイヌナズナ変異体と野生型の間で、SA-Asp 量に有意な差がないことから、SA-Asp の生合成には、GH3.5 以外の酵素も関わっていると考えられる (Zhang et al. 2007). 遊離 SA から SA-Asp の生合成の役割としては、SA に依存した情報伝達の強度を調整する機能が推定される. 一方で、 ^3H 標識 SA-Asp を処理したシロイヌナズナにおいて、未処理葉からも ^3H 標識 SA-Asp が検出されたことから、SA-Asp が植物体内を移動するシグナル分子である可能性もある (Chen et al. 2013).

2.4 SAの水酸化

これまでに、SAの3位の炭素が水酸化された2,3-dihydroxybenzoic acid (2,3-DHBA)と5位の炭素が水酸化された2,5-dihydroxybenzoic acid (2,5-DHBA)が、SAの水酸化物として同定されている(図2)。2,3-DHBAと2,5-DHBAはともに細胞内では多くが配糖体として存在しており、これら配糖体は加齢に伴い増加する(Bartsch et al. 2010)。例えば、8週齢のシロイヌナズナでは、2,3-DHBAと2,5-DHBAのそれぞれの配糖体はSAGを上回るほど蓄積する(Bartsch et al. 2010)。SAを2,3-DHBAへ変換する酵素としては、シロイヌナズナのSA 3-hydroxylase (S3H)が知られている(Zhang et al. 2013)。実際に、シロイヌナズナ *s3h* 変異体では、2,3-DHBA量が低下し、遊離SA量が増加する(Zhang et al. 2013)。一方で、2,5-DHBAは、古くから植物が生産する芳香族酸として知られていたが、その合成に関わる酵素は長らく不明であった(Griffiths 1958)。Zhang et al. (2017)はsalicylic acid 5-hydroxylase (S5H)活性を持つ2-oxoglutarate-Fe(II) oxygenaseが植物に存在していて、S5HがSAを水酸化することで2,5-DHBAが生産されるという仮説を基に研究を進めた。そして、うどんこ病菌に対する抵抗性を負に制御するシロイヌナズナ *Downy Mildew Resistant6* (*DMR6*)の遺伝子産物がS5Hであることを見出した。*s5h/dmr6*変異体は、加齢に伴い増加する2,5-DHBA量が減少し、早期の老化と病原細菌に対する抵抗性が亢進する表現型を示した(Zhang et al. 2017)。つまり、SAの水酸化とその配糖体化は、老化や免疫に重要な遊離SAを不活性化していく役割を持つと考えられている(Zhang et al. 2013; Zhang et al. 2017)。興味深いことに、*s3h*と*s5h/dmr6*の二重変異体は老化の進行や病原細菌抵抗性において、*s5h/dmr6*単独変異体と比較してより強い表現型を示した(Zhang et al. 2017)。また、*S3H*と*S5H/DMR6*の遺伝子発現は、一部重複があるものの概して異なるパターンを示しており、*S3H*と*S5H/DMR5*は、ともに遊離SAの水酸化による不活性化の役割を担うが、生育ステージやストレスの種類に応じた機能をもつ可能性がある。

3. 植物病原菌エフェクターによるSA生合成の阻害

植物は病原菌が共通して持つ生体物質を植物免疫受容体により認識し、防御応答を活性化する機構を有しており、多くの病原菌に対して抵抗性を示す。それに対して、一部の病原菌は、植物の免疫システムを攪乱するエフェクターを備えており、多数のエフェクターを宿主細胞に送り込むことで免疫反応を抑制し、感染を成立させる(Lo Presti et al. 2015)。SAは免疫に重要なホルモンであるため、その生合成経路はエフェクターのターゲットになり得る。例えば、トウモロコシに感染し、葉、節および穂にこぶ状の肥大組織を形成させるトウモロコシ黒穂病菌(*Ustilago maydis*)は、分泌シグナル配列を持ったchorismate mutase

をコードするエフェクター遺伝子 *Cmu1* を感染時に発現する。chorismate mutaseはSAの前駆体であるchorismic acidを基質としてprephenic acidを産生する酵素であることから、*Cmu1*は宿主細胞内にてSA生合成の前駆体であるchorismic acidを変換する働きを持つと考えられる(図2)。実際に、生化学的および免疫電子顕微鏡的な手法により、*Cmu1*タンパク質が菌糸から分泌後、宿主植物細胞内へと移行することが示されている(Djamei et al. 2011)。トウモロコシ黒穂病菌 *cmu1* 変異体を感染させたトウモロコシ葉組織では、野生型トウモロコシ黒穂病菌を感染させた場合と比較して、10倍以上のSAが蓄積する。また、トウモロコシ黒穂病菌 *cmu1* 変異体は、野生型と比較してトウモロコシに対する病原性が顕著に低下する(Djamei et al. 2011)。イネもち病菌(*Pyricularia oryzae*)やコムギ黒さび病菌(*Puccinia graminis*)といった他の病原糸状菌ゲノムにも分泌型chorismate mutaseが存在することから、エフェクターによるSA生合成の阻害は、植物病原菌に共通した感染戦略である可能性が示唆されている。

同様にSAの生合成前駆体であるisochorismic acidも病原体のターゲットであることが知られている。この例としては、卵菌であるダイズ茎疫病菌(*Phytophthora sojae*)と糸状菌であるトマト半身萎凋病菌(*Verticillium dahliae*)のisochorismataseをコードする遺伝子 *PsIsc1* および *VdIsc1* が挙げられる。isochorismataseは、isochorismic acidを基質として2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoic acid (DDHB)とpyruvic acidを産生する酵素である。ダイズ茎疫病菌 *PsIsc1* 発現抑制株およびトマト半身萎凋病菌 *VdIsc1* 変異株を用いた解析から、それぞれの *Isc1* 遺伝子は宿主植物に対する病原性に必須で、共に宿主細胞内のSA蓄積を抑制する働きを持つことが示された(Liu et al. 2014)。また、*PsIsc1*あるいは *VdIsc1* を発現させたベンサムアナタバコ葉では、内生のSA量が減少した一方で、DDHB量は増加すること、また、*PsIsc1*と *VdIsc1*は菌糸から細胞外に分泌され、さらに宿主細胞内へと移行することから、この酵素は宿主細胞内にて、SA生合成を阻害すると考えられる(図2)。

おわりに

最近、Yokoo et al. (2018)により、イネ、タバコおよびベンサムアナタバコのICSは、シロイヌナズナのICS1やICS2と比較して、極めて低い活性しか有していないことが報告された。イネのゲノム上には *ICS* 遺伝子が一つかないことを考慮すると、シロイヌナズナとは異なり、イネではICS経路以外のSA生合成経路が主要な役割を担っている可能性が高い。植物のSA生合成経路の理解を深めていくには、シロイヌナズナ以外の植物も研究の対象として解析を進める必要があるだろう。

プラントアクティベーターと総称される植物の免疫機能

を活性化する薬剤が、農薬として実用化されている。通常の殺菌作用を持つ農薬とは異なり、薬剤耐性病原体が出現しない、また複数種の病原菌に対する防除効果を示すなどの利点を持つ。例えば、明治製菓（現 Meiji Seika ファルマ）によって製品化されたプロベナゾールは、世界に先駆けて実用化されたプラントアクティベーターであり、40年以上に渡って病害防除に利用されている（能年 2014）。プラントアクティベーターの新規開発においては、収量維持と防除効果をいかに両立するかがカギとなるが、恒常的に防御応答を活性化する化合物は、生育阻害等の薬害が付随する傾向があるため、プラントアクティベーターとしては不適となってしまう。病原菌が現れたときのみ、防御応答を活性化する作用機作が薬剤に求められる。筆者らの研究グループでは、SA glucosyltransferase の阻害剤 ImprimatinA および B を単離し、それらが植物の抵抗性を亢進することを明らかにした（Noutoshi et al. 2012）。ImprimatinA あるいは B を処理された植物では、遊離 SA が配糖化されにくいため蓄積量が増加し、その結果として耐病性が高まる（Noutoshi et al. 2012）。病害応答時のブレーキ役である SA glucosyltransferase の阻害は、非感染時には大きな作用を示すことなく、感染時の SA 情報伝達を亢進できる点で、プラントアクティベーターの作用機作として理に適ったアプローチであると言える。配糖化以外にも、遊離 SA の不活性化の仕組みが明らかになってきており、それらを作用点とした新規プラントアクティベーターの開発も可能であろう。これまでに蓄積された知見を基に、新たな農作物の病害防除技術が開発されていくことを期待したい。

文 献

- 能年義輝 (2014) 植物免疫プライミング剤の単離と作用機序解明. 岡山大学農学部学術報告 **103** : 31-36.
- Attaran, E, Zeier, TE, Griebel, T and Zeier, J (2009) Methyl salicylate production and jasmonate signaling are not essential for systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **21** : 954-971.
- Bartsch, M, Bednarek, P, Vivancos, PD, Schneider, B, von Roepenack-Lahaye, E, Foyer, CH, Kombrink, E, Scheel, D and Parker, JE (2010) Accumulation of isochorismate-derived 2,3-dihydroxybenzoic 3-O- β -D-xyloside in *Arabidopsis* resistance to pathogens and ageing of leaves. *J Biol Chem* **285** : 25654-25665.
- Bussell, JD, Reichelt, M, Wiszniewski, AA, Gershenson, J and Smith, SM (2014) Peroxisomal ATP-binding cassette transporter COMATOSE and the multifunctional protein abnormal INFLORESCENCE MERISTEM are required for the production of benzoylated metabolites in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiol* **164** : 48-54.
- Chen, Y, Shen, H, Wang, M, Li, Q and He, Z (2013) Salicyloyl-aspartate synthesized by the acetyl-amido synthetase GH3.5 is a potential activator of plant immunity in *Arabidopsis*. *Acta Biochim Biophys* **45** : 827-836.
- Dean, JV and Delaney, SP (2008) Metabolism of salicylic acid in wild-type, *ugt74f1* and *ugt74f2* glucosyltransferase mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Plant* **132** : 417-425.
- Dean, JV, Mohammed, LA and Fitzpatrick, T (2005) The formation, vacuolar localization, and tonoplast transport of salicylic acid glucose conjugates in tobacco cell suspension cultures. *Planta* **221** : 287-296.
- Delaney, TP, Uknes, S, Vernooij, B, Friedrich, L, Weymann, K, Negrotto, D, Gaffney, T, Gut-Rella, M, Kessmann, H, Ward, E and Ryals, J (1994) Central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* **266** : 1247-1250.
- Dempsey, DA, Vlot, AC, Wildermuth, MC and Klessig, DF (2011) Salicylic acid biosynthesis and metabolism. In *The Arabidopsis Book*, 9 : e0156, American Society of Plant Biologists.
- Djamei, A, Schipper, K, Rabe, F, Ghosh, A, Vincon, V, Kahnt, J, Osorio, S, Tohge, T, Fernie, AR, Feussner, I, Feussner, K, Meinicke, P, Stierhoff, Y, Schwarz, H, Macek, B, Mann, M and Kahmann, R (2011) Metabolic priming by a secreted fungal effector. *Nature* **478** : 395-398.
- Gao, QM, Kachroo, A and Kachroo, P (2014) Chemical inducers of systemic immunity in plants. *J Exp Bot* **65** : 1849-1855.
- Garcion, C, Lohmann, A, Lamodièrre, E, Catinot, J, Buchala, A, Doermann, P and Métraux, JP (2008) Characterization and biological function of the *ISOCHORISMATE SYNTHASE2* gene of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **147** : 1279-1287.
- Griffiths, LA (1958) Occurrence of gentisic acid in plant tissues. *Nature* **182** : 733-734.
- Huang, J, Gu, M, Lai, Z, Fan, B, Shi, K, Zhou, YH, Yu, JQ, and Chen, Z (2010) Functional analysis of the *Arabidopsis* *PAL* gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. *Plant Physiol* **153** : 1526-1538.
- Huot, B, Yao, J, Montgomery, BL and He, SY (2014) Growth-defense tradeoffs in plants: A balancing act to optimize fitness. *Mol Plant* **7** : 1267-1287.
- Lim, EK, Doucet, CJ, Li, Y, Elias, L, Worrall, D, Spencer, SP, Ross, J and Bowles, DJ (2002) The activity of *Arabidopsis* glucosyltransferases toward salicylic acid, 4-hydroxybenzoic acid, and other benzoates. *J Biol Chem* **277** : 586-592.
- Liu, T, Song, T, Zhang, X, Yuan, H, Su, L, Li, W, Xu, J, Liu, S, Chen, L, Chen, T, Zhang, M, Gu, L, Zhang, B and Dou, D (2014) Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis. *Nat Commun* **5** : 4686.
- Lo Presti, L, Lanver, D, Schweizer, G, Tanaka, S, Liang, L, Tollot, M, Zuccaro, A, Reissmann, S and Kahmann, R (2015) Fungal effectors and plant susceptibility. *Annu Rev Plant Biol* **66** : 513-545.
- Malamy, J, Carr, JP, Klessig, DF and Raskin, I (1990) Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* **250** : 1002-1004.
- Miura, K and Tada, Y (2014) Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front Plant Sci* doi:10.3389/fpls.2014.00004.
- Noutoshi, Y, Okazaki, M, Kida, T, Nishina, Y, Morishita, Y, Ogawa, T, Suzuki, H, Shibata, D, Jikumaru, Y, Hanada, A, Kamiya, Y and Shirasu, K (2012) Novel plant immune-priming compounds identified via high-throughput chemical screening target salicylic acid glucosyltransferases in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24** : 3795-3804.
- Park, SW, Kaimoyo, E, Kumar, D, Mosher, S and Klessig, DF (2007) Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science* **318** : 113-116.
- Raskin, I (1992) Role of salicylic acid in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **43** : 439-463.

- Seskar, M, Shulaev, V and Raskin, I** (1998) Endogenous methyl salicylate in pathogen-inoculated tobacco plants. *Plant Physiol* **116** : 387-392.
- Shine, MB, Yang, JW, El-Habbak, M, Nagyabhyru, P, Fu, DQ, Navarre, D, Ghabrial, S, Kachroo, P and Kachroo, A** (2016) Cooperative functioning between phenylalanine ammonia lyase and isochorismate synthase activities contributes to salicylic acid biosynthesis in soybean. *New Phytol* **212** : 627-636.
- Shirasu, K, Nakajima, H, Rajasekhar, VK, Dixon, RA and Lamb, C** (1997) Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *Plant Cell* **9** : 261-270.
- Shulaev, V, Silverman, P and Raskin, I** (1997) Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature* **385** : 718-721.
- Vaca, E, Behrens, C, Theccanat, T, Choe, JY and Dean, JV** (2017) Mechanistic differences in the uptake of salicylic acid glucose conjugates by vacuolar membrane-enriched vesicles isolated from *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Plant* **161** : 322-338.
- Van Poecke, RMP, Posthumus, MA and Dicke, M** (2001) Herbivore-induced volatile production by *Arabidopsis thaliana* leads to attraction of the parasitoid *Cotesia rubecula* : chemical, behavioral, and gene-expression analysis. *J Chem Ecol* **27** : 1911-1928.
- Vlot, AC, Liu, PP, Cameron, RK, Park, SW, Yang, Y, Kumar, D, Zhou, F, Padukkavidana, T, Gustafsson, C, Pichersky, E and Klessig, DF** (2008) Identification of likely orthologs of tobacco salicylic acid-binding protein 2 and their role in systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **56** : 445-456.
- Westfall, CS, Herrmann, J, Chen, Q, Wang, S and Jez, JM** (2010) Modulating plant hormones by enzyme action : the GH3 family of acyl acid amido synthetases. *Plant Signal Behav* **5** : 1607-1612.
- White, RF** (1979) Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology* **99** : 410-412.
- Widhalm, JR, Ducluzeau, AL, Buller, NE, Elowsky, CG, Olsen, LJ and Basset, GJC** (2012) Phylloquinone (vitamin K₁) biosynthesis in plants : two peroxisomal thioesterases of Lactobacillales origin hydrolyze 1,4-dihydroxy-2-naphthoyl-CoA. *Plant J* **71** : 205-215.
- Wildermuth, MC, Dewdney, J, Wu, G and Ausubel, FM** (2001) Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature* **414** : 562-565.
- Xu, L, Zhao, H, Ruan, W, Deng, M, Wang, F, Peng, J, Luo, J, Chen, Z and Yi, K** (2017) ABNORMAL INFLORESCENCE MERISTEM1 functions in salicylic acid biosynthesis to maintain proper reactive oxygen species levels for root meristem activity in rice. *Plant Cell* **29** : 560-574.
- Yokoo, S, Inoue, S, Suzuki, N, Amakawa, N, Matsui, H, Nakagami, H, Takahashi, A, Arai, R and Katou, S** (2018) Comparative analysis of plant isochorismate synthases reveals structural mechanisms underlying their distinct biochemical properties. *Biosci Rep*, doi:10.1042/BSR20171457.
- Zhang, K, Halitschke, R, Yin, C, Liu, CJ and Gan, SS** (2013) Salicylic acid 3-hydroxylase regulates *Arabidopsis* leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* **110** : 14807-14812.
- Zhang, Y, Zhao, L, Zhao, J, Li, Y, Wang, J, Guo, R, Gan, S, Liu, CJ and Zhang, K** (2017) *SSH/DMR6* encodes a salicylic acid 5-hydroxylase that fine-tunes salicylic acid homeostasis. *Plant Physiol* **175** : 1082-1093.
- Zhang, Z, Li, Q, Li, Z, Staswick, PE, Wang, M, Zhu, Y and He, Z** (2007) Dual regulation role of GH3.5 in salicylic acid and auxin signaling during *Arabidopsis-Pseudomonas syringae* interaction. *Plant Physiol* **145** : 450-464.

連絡先 : 〒 230-0045 神奈川県鶴見区末広 1-7-22
理化学研究所 環境資源科学研究センター
白須 賢
TEL : 045-503-9574
FAX : 045-503-9573
E-mail : ken.shirasu@riken.jp