



Universiteit
Leiden
The Netherlands

More JAZ in the orchestration of jasmonate-mediated plant defense

Zhou, M.

Citation

Zhou, M. (2014, March 11). *More JAZ in the orchestration of jasmonate-mediated plant defense*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/24510>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/24510>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/24510> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Zhou, Meiliang

Title: More JAZ in the orchestration of jasmonate-mediated plant defense

Issue Date: 2014-03-11

Samenvatting

Samenvatting

Planten zijn blootgesteld aan vele verschillende milieu-invloeden, waaronder aanvallen door microbiële ziekteverwekkers en door plantenetende insecten. Waarneming van deze stress door de plant resulteert meestal in de biosynthese van één of meer van de signaalmoleculen jasmonaten (JAs), ethyleen (ET), salicylzuur (SA) en gibberellinezuur (GA). Dit genereert signaaltransductie netwerken, die leiden tot het aanschakelen van een gecoördineerde set van verdedigingsresponsen teneinde verdere schade en verspreiding van pathogenen te voorkomen.

Jasmonzuur (JA) en aanverwante oxylipines, gezamenlijk bekend als jasmonaten (JAs), zijn belangrijke regulatoren van de reacties van planten op biotische stress. De belangrijkste bioactieve JAs is het aminozuurconjugaat jasmonoyl-isoleucine (JA-Ile). JA-Ile wordt waargenomen door het F-box eiwit CORONATINE-INSENSITIVE1 (COI1), dat deel uitmaakt van een Skp1/Cullin/F-box (SCF^{COI1}) complex met veronderstelde E3 ubiquitine ligase activiteit. Dit leidt tot afbraak van JAZ repressor eiwitten, waardoor de JAZ doelwit-eiwitten, zoals de basische helix-lus-helix (bHLH) transcriptiefactoren MYC2, MYC3 en MYC4 maar ook andere transcriptiefactoren, vrij komen en hun activiteit kunnen uitoefenen.

In het algemeen kan worden gesteld dat de reacties op verwonding en insectenvraat tot stand komen via JAs alleen, terwijl de verdediging tegen necrotrofe microbiële ziekteverwekkers wordt bemiddeld door JAs gecombineerd met ET. De huidige kennis over de verschillende componenten van de JAs signaaltransductieroute en over de JAs-gereguleerde transcriptiefactoren passeert de revue in **Hoofdstuk 1**.

Octadecanoïde-Responsieve Arabidopsis AP2/ERF-domein transcriptiefactor 59 (ORA59) treedt op als integrator van de JAs en ET signaaltransductieroutes en is de centrale regulator van JAs- en ET-gereguleerde genexpressie, waaronder het *plantdefensine 1.2* (PDF1.2) gen, in de modelplant *Arabidopsis thaliana* (zandraket). De moleculaire mechanismen waardoor regulatoire eiwitten de activiteit van ORA59 aanschakelen of onderdrukken werden niet eerder onderzocht, en dit onderwerp staat centraal in dit proefschrift.

Hoofdstuk 2 beschrijft de identificatie van de CCCH zinkvingereiwitten ZFAR1 en ZFAR2 als factoren die binden aan ORA59 in gist en *in planta*. Deze eiwitten bleken de activiteit van ORA59 te onderdrukken. **Hoofdstuk 2** beschrijft verder een nieuwe directe moleculaire verbinding tussen de centrale JAZ regulatoren en ORA59. ZFAR1 en ZFAR2 bleken te binden aan een lid van de JAZ familie, namelijk JAZ1, in gist twee-hybride (Y2H) testen. Bimoleculaire fluorescentie complementatie (BiFC) testen maakten interactie tussen JAZ1 en ZFAR1/2 zichtbaar in de kern van *Arabidopsis* celsuspensie protoplasten. Bovendien bleken de ZFAR eiwitten te fungeren als adapters om JAZ1 te binden aan ORA59, en ze bleken daarmee de activiteit van deze transcriptiefactor te onderdrukken in *trans*-activatie testen in protoplasten. In infectietesten van *Arabidopsis* planten met de necrotrofe schimmel *Botrytis cinerea* bleek dat de *Arabidopsis jaz1* en *zfar1zfar2* mutanten minder zwaar getroffen waren dan wild-type planten, hetgeen in overeenstemming is met de moleculaire rol van de betreffende eiwitten als repressoren van ORA59. Kortom, de resultaten toonden aan dat JAZ1 interageert met ZFAR1 en ZFAR2 om als repressor van ORA59 op te treden.

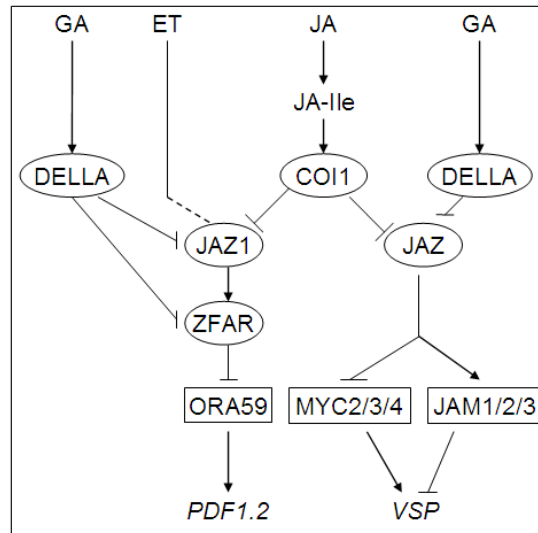
Andere onderzoekers hebben gerapporteerd dat het hormoon GA de JAs/ET-afhankelijke verdediging beïnvloedt via de DELLA eiwitten, die bekend staan als belangrijke repressoren van GA signaaltransductie. Echter, de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de interactie tussen de JAs/ET en GA signaaltransductieroutes waren grotendeels onbekend.

Studies beschreven in **Hoofdstuk 3** waren gericht op het ontleden van de mechanismen waarmee DELLA's de activiteit van ORA59 beïnvloeden. Y2H en BiFC testen toonden aan dat alle vijf DELLA eiwitten die in Arabidopsis voorkomen kunnen binden aan ZFAR1 en ZFAR2. Uit *in vitro* competitieve “pulldown” testen bleek dat het DELLA eiwit RGA, door competitie voor de binding tussen ORA59 en ZFAR en tussen ZFAR en JAZ1, in staat was om ORA59 te bevrijden uit het ORA59/ZFAR/JAZ complex. In *trans*-activatie testen in Arabidopsis protoplasten verzwakte het DELLA eiwit RGA het remmende effect van JAZ1 op ORA59, en daarmee nam de activiteit van ORA59 op zijn *PDF1.2* doelpromoter toe. Transgene planten met verhoogde expressie van de DELLA eiwitten RGA of GAI vertoonden een verhoogde resistentie tegen *B. cinerea*. De resultaten geven aan dat DELLA eiwitten fungeren als positieve regulatoren van ORA59 activiteit en ze kunnen daardoor de resistentie tegen necrotrofe pathogenen beïnvloeden.

Hoofdstuk 4 beschrijft de karakterisering van een nieuw JAZ doelwitewit, namelijk de bHLH transcriptiefactor JA-geassocieerd MYC2-achtig 1 (JAM1). In *trans*-activatie testen in Arabidopsis protoplasten fungeerde JAM1 als een repressor van dezelfde promotor die werd geactiveerd door MYC2. Y2H en BiFC testen toonden aan dat JAZ5, JAZ6, JAZ7, JAZ8, JAZ10 en JAZ11 konden binden aan JAM1. In *trans*-activatie testen in Arabidopsis protoplasten versterkten JAZ eiwitten de repressieve activiteit van JAM1. De resultaten geven aan dat JAZ eiwitten fungeren als co-repressoren die de repressieve activiteit van JAM1 moduleren in de JAs signaaltransductieroute.

Het doel van de studies in dit proefschrift was om de moleculaire mechanismen te ontrafelen waardoor regulatoire eiwitten de werking van de JAs/ET-responsieve transcriptiefactor ORA59 in de zandraket beïnvloeden. Figuur 1 toont een model waarin de belangrijkste resultaten gepresenteerd in dit proefschrift zijn weergegeven. De transcriptiefactor ORA59 stimuleert de expressie van JAs/ET-responsieve genen waaronder *PDF1.2*. De ORA59 interactie partners ZFAR1 en ZFAR2 werven het eiwit JAZ1 teneinde de transcriptionele activiteit van ORA59 te onderdrukken in afwezigheid van biotische stress. JAs, geproduceerd na een aanval door microbiële pathogenen of herbivore insecten, veroorzaken afbraak van JAZ1 wat resulteert in het vrij komen van ORA59, en dientengevolge leidt tot de activering van de expressie van genen betrokken bij de verdediging, zoals *PDF1.2*. Zonder GA productie binden stabiele DELLA eiwitten aan de co-repressor JAZ1, hetgeen leidt tot een toename van de basale ORA59 activiteit. GA bevordert de afbraak van DELLA eiwitten, waardoor JAZ1 vrijkomt, en de vorming van het inactieve JAZ1-ZFAR-ORA59 complex bevordert. In de tak van de JAs signaaltransductieroute die leidt tot weerstand tegen herbivoren, resulteert afbraak van JAZ in verhoogde activiteit van bHLH transcriptiefactoren, waaronder MYC2-4 en JAM1-3. JAMs functioneren als transcriptionele repressoren die de MYC transcriptionele activatoren tegenwerken door competitie voor binding aan hun doelwitsequenties, en ze onderdrukken daardoor de

expressie van JAs-responsieve genen. GA bevordert de afbraak van DELLA eiwitten, waardoor meer JAZ repressoren kunnen binden aan de MYC en JAM eiwitten en daarmee de uitkomst van het JAs signaaltransductienetwerk beïnvloeden.



Figuur 1. Model voor de interactie tussen de GA en JAs signaaltransductieroutes. Zie tekst voor details.

