

研 究 報 告 書

「オーキシン調節による植物の成長制御機構の解明」

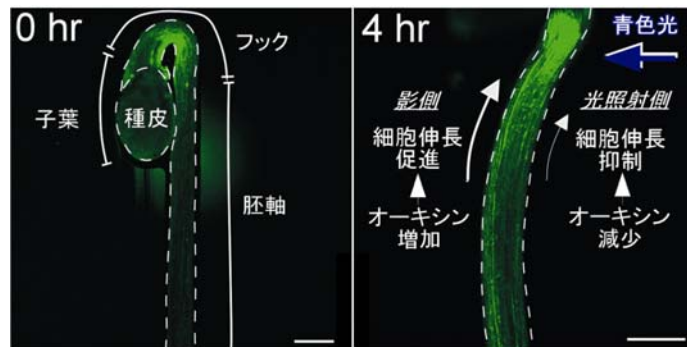
研究期間：平成19年10月～平成23年3月

研究者：酒井 達也

1. 研究のねらい

植物ホルモン・オーキシンは低分子量の成長制御分子である。細胞内オーキシン量の調節によって、細胞の成長、分裂、分化、ひいては個体の大きさ、発生、生殖など様々な植物の営みが制御されている。細胞内オーキシン量は、生合成・代謝調節及び細胞膜に局在するオーキシン輸送体を介した細胞内外への流出入調節によってなされているが、未だその分子機構の詳細は明らかになっていない。オーキシン量調節の仕組みを明らかにすることは、植物細胞を扱うすべての研究分野に影響を与える、植物科学研究の最重要課題の一つである。本研究は光による偏差成長制御、光屈性反応をモデルとして(図1)、植物細胞のオーキシン量調節の分子機構の解明を目的に行った。植物の三つの主要な光受容体ファミリー、フィトクロム(phy)、クリプトクロム(cry)、フォトロピン(phot)は、それぞれ異なるシグナル伝達経路を介してオーキシン量の調節を行っている。それらの分子機構を明らかにすることによって、光環境刺激に適応した細胞の成長・倍数化・分裂・分化の制御機構の解明を目指した。さらに将来、光によるオーキシン制御が葉や根器官の光形態形成に与える可能性を検証し、農作物の物質生産性及び環境適応性の向上に資するオーキシン作用の人工調節技術の基盤創出を目指した。

図1. シロイヌナズナ芽生え胚軸のオーキシンレポーター遺伝子発現パターン(緑色)。矢印方向へ青色光を照射すると、4時間後には光源方向への胚軸の屈曲と、胚軸影側におけるオーキシン蓄積が観察される。オーキシンは影側で細胞伸長を誘導し、胚軸全体を光源側に屈曲させる。



2. 研究成果

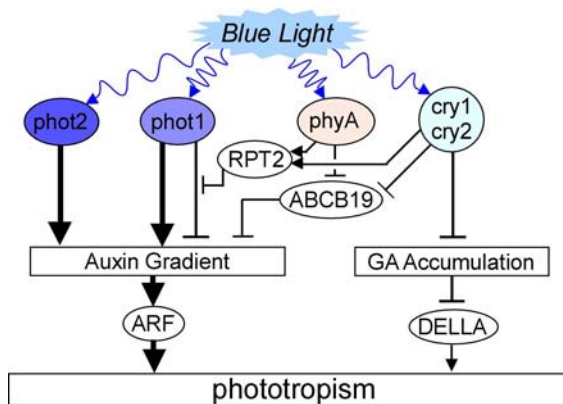
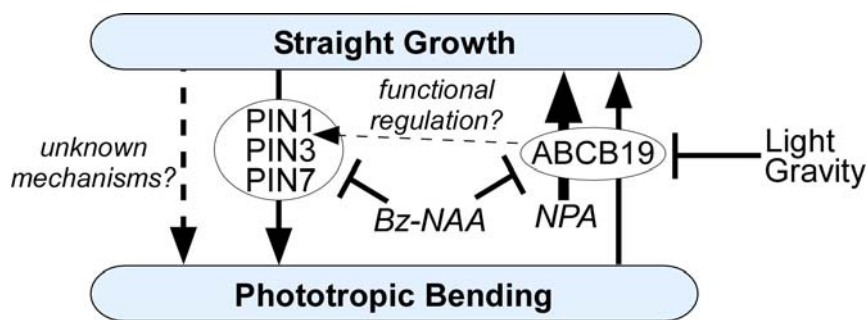


図2. 光屈性制御に働く光シグナリングの遺伝学的モデル

我々は phy・cry 光受容体が3つの機能を介して光屈性に重要な働きをすることを明らかにした(図2)。まず第一に、phy・cry は光屈性を負に制御しているオーキシン輸送体 ABCB19 の発現を抑制することによって、間接的に光屈性を促進していることを発見した(Nagashima et al., 2008a)。A. Murphy 博士らとの共同研究によって、ABCB19 は別のオーキシン輸送体 PIN1 の細胞膜局在安定化に寄与しており、その活性を調節していることを明らかにした(Titapiwatanakun et al., 2009)。ABCB19 そのもののオーキシン極性輸送が光屈性を阻害するばかりでなく、PIN1 の機能の調節を介した働きがあることも示唆された。

第二に、*phy•cry* は *phot1* シグナル伝達因子 *RPT2* の転写発現制御を介して光屈性の促進を行うことを明らかにした (Tsuchida-Mayama et al., 2010)。第三に、これまで屈性応答への関与がほとんど報告されていなかった細胞伸長制御ホルモン・ジベレリンが光・重力屈性の抑制に働き、*cry* はジベレリン生合成・代謝関連遺伝子の発現制御を介してジベレリン量を減少させ屈性の促進を行うことを明らかにした (Tsuchida-Mayama et al., 2010)。

オーキシン輸送体の光屈性における機能を示唆する重要な証拠の一つは、オーキシン輸送阻害剤 *NPA* が光屈性を阻害する点にあった。しかし、我々は *NPA* の屈性阻害効果が *ABCB19* の存在に依存しており、*abcb19* 変異体は *NPA* 存在下でも十分に屈性を示すことを明らかにした (Nagashima et al., 2008b)。さらに、岡山理科大学林謙一郎博士らによって新たに開発されたオーキシン輸送阻害剤 *Bz-NAA* (オーキシン輸送体すべての活性を直接阻害するオーキシン活性を持たないオーキシン派生体) の光屈性に対する効果を調べた結果、



Bz-NAA はシロイヌナズナ胚軸及び根の重力屈性を効果的に阻害するが、光屈性の阻害効果は低いことを明らかにした (図3: Tsuda et al. [2010] J. Biol. Chem, *in press*)。

図3. 胚軸の直線成長と光屈性におけるオーキシン輸送体及びオーキシン輸送阻害剤の関係

これらの発見は、まず第一に植物の胚軸には屈曲を誘導する機構ばかりでなく、屈曲を抑制する機構

が存在しており、*phy•cry* はこれらの屈曲抑制機構の働きを抑えることによって間接的に光屈性を促進しているという、新しい植物の屈曲成長の概念を示唆した。また *phy cry* 多重変異体の表現型が、*RPT2* の恒常的発現及びジベレリン生合成阻害のみで十分相補したことから、研究計画初期の予想に反し、*phy•cry* のオーキシン生合成・代謝調節機構は光屈性反応への貢献度が低いことが推測された。一方、オーキシン輸送阻害剤を用いた研究からは、オーキシン輸送体の光屈性における機能はこれまで予想していたよりも低い可能性が示唆された。

3. 今後の展開

光屈性に *PIN* オーキシン輸送体が重要な機能を果たしていることを予想して研究を始めたが、本研究によって、確かに機能するもののそれだけでは不十分であり、他の新たな分子機構を想定する必要があることが示唆された。今後、一方で *PIN* の光屈性における機能と *phot* による機能調節の仕組みの詳細を明らかにし、もう一方で *PIN* オーキシン輸送に依存しない光屈性誘導機構の発見を目指す必要があると考えている。もともと *phot* 光受容体が単細胞緑藻類から存在し機能していることを考慮すれば、オーキシンの細胞間輸送制御ばかりでなく、細胞自立的な細胞伸長制御機構の関与の可能性も視野にいれて、今後研究を進めていく必要があると考えている。

4. 自己評価 (S, A, B, C, 4段階評価)

・研究目標1: 光屈性を誘導するフォトトロピンシグナル伝達経路の解明

B 評価。*NPH3* の脱リン酸化機構及び *RPT2* の転写後発現制御機構の解明から、*phot* の生化学的機能を理解しようと研究を進めたが、未だその詳細が明らかになっていない。

・研究目標2: 光屈性を誘導するオーキシン輸送体の同定及びその機能制御機構の解明

B 評価。光屈性に関与するオーキシン輸送体を同定することに成功したが、その機能の

phot シグナリングによる制御について明らかにできていない。またこの研究から、光屈性は PIN だけでは説明がしにくいという次の課題が見つかった。

・研究目標3: phy、cry による光屈性制御機構の解明

S 評価。phy、cry による光屈性制御の詳細を明らかにし、phot シグナリングとのクロストークの研究では世界的にもトップクラスの成果を得た。本研究成果により、光屈性における phy、cry 機能の主要な点は明らかになったものと考えられる。

・研究目標4: 植物の物質生産性、環境適応性向上に資する遺伝子機能の発見

B 評価。phot の生化学的機能及びオーキシン濃度勾配形成に至るシグナル伝達経路の解明に至らず、そこから期待された応用面の遺伝子機能の発見・開発について見通しが立っていない。ただし、光屈性研究から離れることになったオーキシン生合成経路の研究では、物質生産性向上に資する遺伝子機能の発見の萌芽的研究成果が共同研究で生まれつつある。

5. 研究総括の見解

本研究は、ダーウィンが 100 年以上前に記載した植物の光屈性について、光受容から光屈性ホルモンであるオーキシンの不等分布によってこの現象が生起する分子機構の解明を目指した。光屈性を誘発する弱い青色光は青色光受容体である Phot1 によって受容され、その情報は RTP2 及び NPH3 を介してオーキシンの不等分布を引き起こされた。一方強い青色光は Phot2 によって受容され、NPH3 のリン酸化を介して光屈性を引き起こした。また、この光シグナル系は PhyB や Cry によっても巧妙な制御を受けた。しかし残念ながらこれらの光シグナル伝達系がどのようにオーキシンの不等分布を引き起こすのか、とくにオーキシン輸送体としてこれまで知られている PIN との関連を明確にするには至らなかった。しかし新たに ABCB19 という PIN の機能に関わる輸送体を見出し、今後の研究展開が期待される。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表 * corresponding author

1. Tomoko Tsuchida-Mayama, Tatsuya Sakai*, Atsushi Hanada, Yukiko Uehara, Tadao Asami, and Shinjiro Yamaguchi. (2010) Role of the phytochrome and cryptochrome signaling pathways in hypocotyl phototropism. <i>Plant J.</i> 62, 653-662.
2. Boosaree Titapiwatanakun, Joshua J. Blakeslee, Anindita Bandyopadhyay, Haibing Yang, Jozef Mravec, Michael Sauer, Yan Cheng, Jiri Adamec, Akitomo Nagashima, Markus Geisler, Tatsuya Sakai, Jiri Friml, Wendy Ann Peer and Angus S. Murphy. (2009) ABCB19/PGP19 stabilises PIN1 in membrane microdomains in Arabidopsis. <i>Plant J.</i> 57, 27-44.
3. Akitomo Nagashima, Yukiko Uehara, and Tatsuya Sakai*. (2008b) The ABC subfamily B auxin transporter AtABCB19 is involved in the inhibitory effects of N-1-naphthylphthalamic acid on the phototropic and gravitropic responses of Arabidopsis hypocotyls. <i>Plant Cell Physiology</i> 49, 1250-1255.
4. Tomoko Tsuchida-Mayama, Michiharu Nakano, Yukiko Uehara, Miho Sano, Noriko Fujisawa, Kiyotaka Okada, and Tatsuya Sakai*. (2008) Mapping of the Phosphorylation Sites on the Phototropic Signal Transducer, NPH3. <i>Plant Sci.</i> 174, 626-633.
5. Akitomo Nagashima, Genki Suzuki, Yukiko Uehara, Kensuke Saji, Toshiko Furukawa, Tomokazu Koshiba, Masayo Sekimoto, Shozo Fujioka, Takeshi Kuroha, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Noriko Fujisawa, Kiyotaka Okada, and Tatsuya Sakai*. (2008a) Phytochromes and cryptochromes regulate the differential growth of Arabidopsis hypocotyls in both a PGP19-dependent and -independent manner. <i>Plant J.</i> 53, 516-529.

(2) 特許出願

なし

(3) その他(主要な招待講演(学会発表)、受賞、著作物等)

招待講演

1. 酒井達也, 植田(間山)智子, 永島明知, 上原由紀子 (2009) 光屈性における光センシングのクロストーク。日本植物生理学会年会。招待講演。名古屋。
2. Tatsuya Sakai (2008) Phototropism of Arabidopsis seedlings. 4th Asia Oceania Conference on Photobiology. Varahasi, India.
3. Tomoko Tsuchida-Mayama, Akitomo Nagashima, and Tatsuya Sakai. (2008) Molecular mechanisms of hypocotyl phototropism in Arabidopsis. Plant Photobiology, Univ. Missouri, Columbia, USA.

受賞

1. 日本植物生理学会 奨励賞 「光に応答した植物の成長パターン制御機構の分子遺伝学的解析」(2009年3月22日)

著作物

1. 光屈性におけるオーキシシンシグナリング。植物のシグナル伝達、柿本辰男・高山誠司・福田裕穂・松岡信編。共立出版。(2010年)