

戦略的創造研究推進事業 C R E S T  
研究領域「ライフサイエンスの革新を目指した  
構造生命科学と先端的基盤技術」  
研究課題「重力屈性における重力シグナリングの分  
子機構～分子構造から個体応答まで～」

## 研究終了報告書

研究期間 2014年10月～2020年3月

研究代表者：森田(寺尾)美代  
(自然科学研究機構基礎生物学研究  
所、教授)

## §1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

重力屈性は植物が重力方向を認識した上で行う成長方向の制御である。重力感受細胞には、比重の高いアミロプラスト(色素体の一種)が存在し、これが重力方向に沈降することが重力方向の認識に重要であることが示されている。重力感受の後、オーキシンの輸送制御を介して、器官内において重力方向側のオーキシン濃度が高まることで、器官が屈曲する。重力感受細胞において、アミロプラスト沈降がどのように認識され、どのような情報伝達がオーキシン輸送制御を実現するのか、という重力シグナリングの分子機構に関する知見は極めて乏しかった。森田グループは、シロイヌナズナ重力感受細胞に着目した独自のトランスクリプトーム解析から見出した機能未知の蛋白質ファミリーLZYs (LAZY1-LIKE proteins; LZY1, LZY2, LZY3)が、地上部、地下部いずれの器官においても重力感受細胞内での重力シグナリングの中核的役割を持つことを示した。これまで重力屈性研究は主茎や主根の鉛直線に沿った反応を中心に展開してきたが、植物器官は多くの場合、重力方向に対して一定の角度(GSA: **gravitropic set point angle**)を保って成長する傾斜重力屈性を示す。GSAの制御は、植物の根の張り方や枝振りなど全体の構造(アーキテクチャ)に大きく影響し、植物が地上及び地下部において資源取得を最適化する為の機構の一つと考えられ、育種上重要な性質である。これまで主軸の重力屈性と側生器官のGSA制御は深い関連性があると認識されながら、これらを統一的に説明できる分子情報は極めて少なかったが、LZYsが側枝及び側根のGSA制御においても重力感受細胞で機能すること、LZYs発現量制御によってGSAを制御し得ること等を明らかにし、主軸及び側生器官のGSA制御の分子機構の統一的理解に向けて重要な手がかりを得た。

森田グループは既知のドメインを持たないLZYsの分子機能を探るべく、相互作用因子RLDを単離し、分子遺伝学的解析からLZYsと同様に重力シグナリングにおいて機能することを示した。また、LZYs-RLD間相互作用はそれぞれのC端ドメイン(CCL、BRX)によって担われており、この相互作用が重力シグナリングに重要であることも示した。更にLZYs-RLDを中心とした複数の蛋白質が絡むシグナルネットワークの探索およびその動作原理を構造レベルで理解することを目指した。平野グループはCCL-BRX間の結晶構造解析に成功し、相互作用の定量的解析や複合体形成に寄与する分子間相互作用を明らかにした。この構造情報をもとに森田グループは、植物体内におけるCCL-BRX相互作用の機能的意義を明らかにした。更に、複数のLZY、RLDの相互作用因子を単離し、森田、平野、森グループにより機能・構造解析を進めた結果、RLDは様々な組織の膜交通経路で機能するが、重力感受細胞においてはLZYによる制御を受けることでオーキシン輸送制御機能を果たす可能性を見出した。また、RLDは他の組織ではLZY以外の相互作用因子によって制御され、環境や発生上のシグナルをRLDに入力し膜交通制御を行うという、今後の研究展開につながる作業仮説を提示するに至った。

プラントアーキテクチャの制御や基礎研究への利用を視野に入れ、CCL-BRX間相互作用を阻害する低分子化合物を見いだす試みを進めた。森田グループ、加藤グループがそれぞれ異なる検出系を立ち上げ、異なる化合物ライブラリを用いてスクリーニングを実施した。阻害効果検出に使用したタンパク質試料は平野、森グループによって提供された。その結果、親和性は高くはないが3種の候補化合物を得た。更にCCL-BRX複合体構造情報を基に、ペプチドを阻害剤として用いる試みも行った。大石グループにより、化学合成により細胞透過性や安定性を考慮したペプチドが作成され、森田グループがペプチド添加による重力屈性の阻害効果を確認した。

なお、論文発表時、米国植物生物学会の命名ルールに従い、遺伝子名、ドメイン名を以下の通り変更した。DGE1=LZY1, DGE2=LZY2, DTL=LZY3, 3遺伝子をまとめた表記DLLs=LZYs, CDLドメイン=CCLドメイン。上記は新しい名称で記した。

## (2) 顕著な成果

### <優れた基礎研究としての成果>

#### 1.

概要：複数の植物において、LZY 遺伝子が重力屈性に関与することは遺伝学的に示されていたが、どのような素過程で機能しているかは不明であった。我々は、シロイヌナズナを用いて LZYS が重力感受細胞内で重力方向へのオーキシン輸送促進に機能することを分子遺伝学的解析により明らかにした。これにより、極めて知見の乏しかった重力シグナリング分子機構の解明の端緒を開いた。

#### 2.

概要：植物器官は多くの場合、重力方向に対して一定の角度 (GSA) を保って成長する傾斜重力屈性を示す。GSA の制御は、植物全体の構造 (アーキテクチャ) に大きく影響し、育種上重要な性質である。これまで主軸の重力屈性と側生器官の GSA 制御を统一的に説明できる分子情報は極めて少なかったが、LZYS が側枝及び側根の GSA 制御においても重力感受細胞で機能すること等を明らかにし、主軸及び側生器官の GSA 制御の分子機構の統一的理解に向けて重要な手がかりを得た。

#### 3.

概要：LZYS の相互作用因子 RLD が新たな重力シグナリング因子であることを示し、相互作用の構造的、定量的理解をもたらした。また、重力感受細胞内での両タンパク質の重力刺激時の動態を示し、重力シグナリングにおけるそれらの相互作用の意義を明らかにした。

### <科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

#### 1.

概要：GSA の制御は、植物の根の張り方や枝振りなど全体の構造 (アーキテクチャ) に大きく影響し、植物が地上及び地下部において資源取得を最適化する為の機構の一つと考えられ、育種上重要な性質である。本研究では LZY の機能解析によって GSA 制御の分子機構の理解を進めた。

#### 2.

概要：プラントアーキテクチャの制御や基礎研究での利用を視野に入れ、CCL-BRX 間相互作用を阻害する低分子化合物を見いだす試みを進め、阻害効果を示す 3 種の候補化合物を得た。重力屈性に影響を与える化合物は数多く、ホルモン応答、細胞伸長、膜交通等の作用点が示唆されているものの、標的はほとんど明らかでない。本研究で見出した候補化合物は、標的の明確なタンパク質間相互作用阻害によって重力屈性調節剤の開発に貢献することが期待される。

#### 3.

概要：構造情報を基にペプチドを CCL-BRX 間相互作用阻害剤として用いる試みも行い、CCL 類似ペプチド添加による重力屈性の阻害効果を確認した。冗長性の高い RLD 遺伝子の重力屈性以外の機能解析や BRX ドメイン保有タンパク質の機能解析等、基礎研究への利用が期待される。

### <代表的な論文>

Furutani, M., Hirano, Y., Nishimura, T., Taniguchi, M., Suzuki, K., Oshida, R., Kondo, C., Fukao, Y., Hakoshima, T., Morita, M.T. Polarly localized LAZY1-like protein transmits

gravity signal in root branch angle control. *Nat. Commun.* in revision.

Nakamura, M., Nishimura, T., Morita, M.T. (2019) Gravity sensing and signal conversion in plant gravitropism. *J. Exp. Bot.* 70: 3495-3506.

Taniguchi, M., Furutani, M., Nishimura, T., Nakamura, M., Fushita, T., Iijima, K., Baba, K., Tanaka, H., Toyota, M., Tasaka, M., Morita, M.T. (2017) Arabidopsis LAZY1 family plays key role in gravity signaling within statocytes in gravitropism and in branch angle control of roots and shoots. *Plant Cell* 29:1984-1999.

## § 2 研究実施体制

### (1) 研究チームの体制について

#### ① 「森田」グループ

研究代表者：森田（寺尾）美代（基礎生物学研究所 教授）  
研究項目

- ・ DLLs 及び RLD の分子遺伝学的解析
- ・ DLLs-RLD 相互作用調節機構の解析
- ・ CDL-mCherry を用いた重力シグナリング機構の解析
- ・ 更なるシグナリング複合体の実体解明へ向けた取り組み
- ・ DLLs-RLD 相互作用調節物質の探索／創出に向けた取り組み

#### ② 「平野」グループ

主たる共同研究者：平野 良憲（東京大学薬学系研究科 助教）  
研究項目

- ・ CDL-BRX 複合体構造解析
- ・ DLLs, RLD の構造解析
- ・ DLLs-RLD 相互作用調節機構の解析
- ・ 更なるシグナリング複合体の実体解明へ向けた取り組み
- ・ DLLs-RLD 相互作用調節物質の探索／創出に向けた取り組み

#### ③ 「森」グループ

主たる共同研究者：森 智行（奈良先端科学技術大学院大学先端科学研究科 助教）

- ・ 更なるシグナリング複合体の実体解明へ向けた取り組み
- ・ DLLs-RLD 相互作用調節物質の探索／創出に向けた取り組み

#### ④ 「加藤」グループ

主たる共同研究者：加藤 悦子（農業・食品産業技術総合研究機構高度解析センター 主席研究員）

- ・ DLLs-RLD 相互作用調節物質の探索／創出に向けた取り組み

#### ⑤ 「大石」グループ

主たる共同研究者：大石 俊輔（名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任助教）

- ・ DLLs-RLD 相互作用調節物質の探索／創出に向けた取り組み

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

プラントアーキテクチャ制御機構に関する共同研究

Bruno Moulia, Valélie Legue, François Bizet (INRA, France)

西村いくこ、上田晴子 (甲南大学)

LATCA ライブラリを用いた化合物スクリーニングに関する共同研究

Sean Cutler (UC-Riverside, USA)

重力受容機構に関する共同研究

豊田正嗣 (埼玉大学)

PIN タンパク質の輸送制御機構に関する共同研究

田中博和 (大阪大学)

DLLs 相互作用因子の選抜に関する共同研究

深尾陽一郎 (立命館大学)

RLD の分子機能解析に関する共同研究

上田貴志 (基礎生物学研究所)

RLD-GNOM 間の相互作用に関する共同研究

宮沢豊 (山形大学)

RLD、LZY の脂質結合能に関する共同研究

佐藤雅彦 (京都府立大学)

RLD の分子機能解析に関する共同研究

Juan Dong (Rutgers University, USA)

RLD の光応答における機能解析に関する共同研究

Christian Fankhauser (University of Lausanne, Switzerland)

RLD の分子機能解析に関する共同研究

Yvon Jaillais (ENS-Lyon, France)

RLD の分子機能解析に関する共同研究

Rosa Lozano-Duran (Shanghai Center for Plant Stress Biology, China)

LZY の安定性制御に関する共同研究

Erika Isono (University of Konstanz, Germany)