

研究報告書

研究課題名：
オーキシン調節による植物の成長制御機構の解明

(研究領域:「代謝と機能制御」)

研究者氏名: 酒井 達也

(研究期間: 2007年 10月 1日～ 2011年 3月 31日)

研究報告書

1. 研究課題名

オーキシン調節による植物の成長制御機構の解明

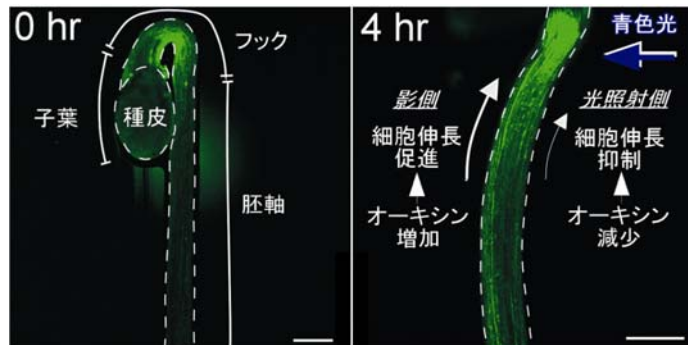
2. 氏名

酒井 達也

3. 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。



4. 研究成果

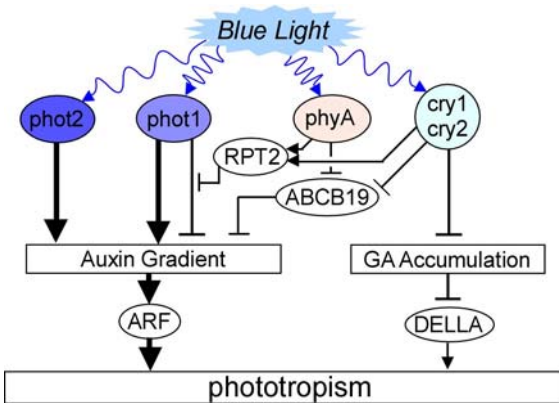


図2. 光屈性制御に働く光シグナリングの遺伝学的モデル

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、

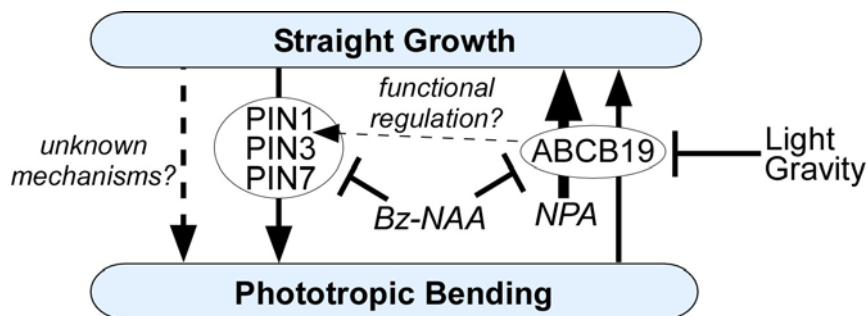


図3. 胚軸の直線成長と光屈性におけるオーキシン輸送体及びオーキシン輸送阻害剤の関係

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*)。

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。

5. 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。

6. 研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. 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, Tatsuya Sakai, Phytochromes and cryptochromes regulate the differential growth of Arabidopsis hypocotyls in both a

- PGP19-dependent and a PGP19-independent manner, *The Plant Journal*, vol. 53, 516–529 (2008)
2. Tomoko Tsuchida – Mayama, Michiharu Nakano, Yukiko Uehara, Miho Sano, Noriko Fujisawa, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai, Mapping of the phosphorylation sites on the phototropic signal transducer, NPH3, *Plant Science*, vol. 174, 626–633 (2008)
 3. Akitomo Nagashima, Yukiko Uehara, Tatsuya Sakai, 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, *Plant Cell Physiology*, vol. 49, 1250–1255 (2008)
 4. 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, Angus S. Murphy, ABCB19/PGP19 stabilises PIN1 in membrane microdomains in *Arabidopsis*, *The Plant Journal*, vol. 57, 27–44 (2009)
 5. Tomoko Tsuchida–Mayama, Tatsuya Sakai, Atsushi Hanada, Yukiko Uehara, Tadao Asami, Shinjiro Yamaguchi, Role of the phytochrome and cryptochrome signaling pathways in hypocotyl phototropism, *The Plant Journal*, vol. 62, 653–662 (2010)
 6. Etsuko Tsuda, Haibing Yang, Takeshi Nishimura, Yukiko Uehara, Tatsuya Sakai, Masahiko Furutani, Tomokazu Koshiba, Masakazu Hirose, Hiroshi Nozaki, Angus S. Murphy, Ken-ichiro Hayashi, Alkoxy-auxins are selective inhibitors of auxin transport mediated by PIN, ABCB and AUX1 transporters, *J. Biol. Chem.*, vol. 286, 2354–2364 (2011)

(2)特許出願
なし

(3)その他の成果

(A)学会発表

1. 槌田(間山)智子、永島明知、岡田清孝、酒井達也、Phototropin, phytochrome, cryptochrome は協調的に光屈性を制御する、第 49 回日本植物生理学会年会(札幌)(2008年3月20日)
2. 永島明知、山口由紀子、古川聡子、小柴共一、黒羽剛、岡田清孝、酒井達也、シロイヌナズナ胚軸のフィトクロムと PGP19 による偏差成長の制御、第 49 回日本植物生理学会年会(札幌)(2008年3月22日)
3. 山口由紀子、永島明知、酒井達也、PGP19 は NPA による光屈性と重力屈性の制御に関与する、第 49 回日本植物生理学会年会(札幌)(2008年3月22日)
4. Tomoko Tsuchida–Mayama, Akitomo Nagashima, Tatsuya Sakai, Molecular mechanisms of hypocotyl phototropism in *Arabidopsis*, 25th Annual Missouri Symposium–Plant Photobiology, Columbia, Missouri, USA (2008/5/28)
5. Tatsuya Sakai, Role of auxin transporter ABCB19 in hypocotyl tropisms, Auxin 2008, Marrakesh, Morocco (2008/10/6)
6. Tatsuya Sakai, Phototropism of *Arabidopsis* seedlings, 4th Asia Oceania Conference on Photobiology, Varanasi, India (2008/11/24)
7. 酒井達也、Analysis of regulatory mechanisms of plant growth in response to light environments、NISSAN SCIENCE FOUNDATION Woody Plants Biotechnology Symposium(東京)(2009年2月26日)
8. 酒井達也、光環境応答におけるオーキシン輸送調節、第 50 回日本植物生理学会年会(名古屋)(2009年3月21日)
9. 酒井達也、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(奨励賞受賞講演)、第 50 回日本植物生理学会年会(名古屋)(2009年3月22日)

10. 酒井達也、槌田(間山)智子、永島明知、上原由紀子、光屈性における光センシングのクロストーク、第 50 回日本植物生理学会年会(名古屋) (2009 年 3 月 22 日)
 11. 酒井達也、光屈性におけるフォトトロピンシグナリングの研究、科学研究費特定領域研究「LOV 光受容体による植物の運動制御機構」報告会(京都) (2009 年 9 月 26 日)
 12. 酒井達也、上原由紀子、光屈性におけるオーキシン輸送制御機構の研究、科学研究費特定領域研究「膜輸送」ワークショップ(修善寺)(2009 年 10 月 2 日)
 13. 上原(山口)由紀子、酒井達也、光屈性シグナル伝達因子 NPH3 のリン酸化を行うタンパク質キナーゼの探索、日本植物生理学会年会(熊本)(2010 年 3 月 19 日)
 14. Tomoko Tsuchida-Mayama, Tatsuya Sakai, Atsushi Hanada, Yukiko Uehara, Tadao Asami, Shinjiro Yamaguchi, Role of the phytochrome and cryptochrome signaling pathways in hypocotyl phototropism, International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan (2010/6/7)
 15. 田中慧太、菅原聡子、増口潔、軸丸祐介、夏目雅裕、川出洋、酒井達也、林謙一郎、神谷勇治、笠原博幸、オーキシン生合成変異体における IAA 代謝調節機構の解析、植物科学調節学会年会(神戸) (2010 年 11 月 1 日)
- (B) 受賞
1. 日本植物生理学会奨励賞(2009 年 3 月 22 日)
- (C) 著作物
1. 酒井達也, 光屈性におけるオーキシンシグナリング, 植物のシグナル伝達一分子と応答一, 柿本辰男・高山誠司・福田裕穂・松岡信編, pp. 77-83, 共立出版 (2010)