

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：63904

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19388

研究課題名(和文) プラントアーキテクチャを決める重力応答の統一的原理の追究

研究課題名(英文) Study on gravity response that determines plant architecture.

研究代表者

森田 美代 (Morita, Miyo)

基礎生物学研究所・植物環境応答研究部門・教授

研究者番号：10314535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：側根や側枝は多くの場合、重力方向に対して一定の角度(GSA)を保って成長する。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る。我々はシロイヌナズナにおいてLAZY1-LIKE(LZY)ファミリーが重力感受細胞において重力方向へのオーキシン分配を制御すること、側枝及び側根のGSA制御にも関与することを明らかにした。本研究では、GSAは重力屈性とそれとは逆方向の偏差成長能(AGO)とのバランスにより決定されるとの作業仮説に基づき、lzy変異体を用いてGSA制御の機構解明を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

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る。これは育種上重要な性質でもあり、詳細な分子機構の解明は将来的に食糧増産などに貢献する可能性がある。また、本研究により主軸の重力屈性と側生器官のGSA制御とを統一的に説明できる分子情報を提供できると期待される。

研究成果の概要(英文)：Lateral roots and lateral shoots generally grow at specific angles with respect to the direction of gravity (GSA; gravitropic setpoint angle). The control of GSA has a great influence on the overall structure of plant body (plant architecture) such as branching and root system, and is thought to be one of the mechanisms for plants to optimize resource acquisition. We had found that the LAZY1-LIKE (LZY) family regulates asymmetric auxin transport in gravity-sensing cells during gravitropism in Arabidopsis. In addition, we had demonstrated that LZY is involved in GSA regulation of lateral shoots and lateral roots. In this study, we aimed to elucidate the mechanism of GSA control using lzy mutants based on the working hypothesis that GSA is determined by the balance between gravitropism and growth capacity in the opposite direction (AGO: anti-gravitropic offset).

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：重力屈性 GSA 傾斜屈性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

重力屈性を行う各器官は、沈降性のアミロプラスト(デンブンを蓄積した高比重の色素体)を含む重力感受細胞を持つ。感受細胞内での重力シグナリングの過程には、アミロプラストの重力方向への沈降を、オーキシンの輸送方向に反映させる機構がある。この結果として器官内にオーキシンの濃度勾配が生じ、器官の屈曲が起こる。側根や側枝は多くの場合、重力方向に対して一定の角度(GSA: gravitropic setpoint angle)を保って成長する(図1)。アミロプラストが沈むのは主軸でも側方器官でも重力方向であるので、側方器官では重力屈性に対して一定のオフセットがかかりGSAが決まると推察されている。100年以上前からGSAは重力屈性と抗重力屈性的成長成分(AGO: anti-gravitropic offset)のバランスによって決定されるという仮説が提唱されている。近年、オーキシン関連遺伝子がGSAに関係することは示されたが、その実態は明らかではなかった。

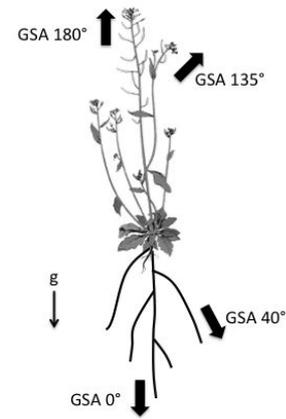


図1 植物器官の伸長方向とGSAの定義

2. 研究の目的

我々は、シロイヌナズナを用いて主軸の重力屈性の分子機構研究を進めてきた成果として、根、茎、胚軸の重力屈性に関わる遺伝子ファミリーLAZY1-LIKE (LZY)を見いだした(研究期間中に遺伝子名を変更したため、DGE1, DGE2, DTL, DLL3は以下それぞれLZY1, LZY2, LZY3, LZY4と記載する)。また、地上部ではLZY1, LZY2, LZY3が、地下部ではLZY2, LZY3, LZY4が冗長的に機能すること、LZYは重力感受細胞で機能し、重力刺激に応じて重力方向へのオーキシン輸送を促進することを明らかにした。

シロイヌナズナにおいて、主茎と主根はそれぞれ180°, 0°のGSAを示すが、側枝や側根は異なるGSAを示す。これまで主軸の重力屈性と側方器官の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、我々はLZYが主軸の重力屈性に加えて、側枝及び側根のGSA制御にも関与することを示した。即ち、lzy多重変異体では側枝、側根のGSAに異常が観察されたのである。上述した機能解析の結果から、LZYの機能欠損変異体ではアミロプラスト沈降の情報をオーキシン分配量に反映できず、各器官の重力屈性は低下するもしくは無くなると考えられる。重力屈性を喪失した場合の側枝や側根の表現型はどのようなものだろうか。宇宙ステーションなど微小重力環境下では、根の伸長方向は定まらず、側枝はおおよそ水平方向(GSA=90°)に伸長する。重力感受細胞欠損変異体も1g環境下で同様の成長をすることから、これが重力屈性を喪失した場合の表現型であり、LZYの機能欠損によっても同様の表現型を示すことが予想された。しかしながら、lzy多重変異体の主根及び側根は上方に、側枝は下方に伸長するという予想外の表現型を示した。この結果から我々は、少なくとも主根、側根、側枝においては、(A)重力受容に応じて重力方向へのオーキシン輸送を正に制御するLZY依存的な重力屈性と、(B)それとは逆の方向に器官を伸長させようとする“抗重力屈性”とも言える成長成分反応が共存している可能性を示すと考えた。100年以上前からGSAは重力屈性と抗重力屈性的成長成分(AGO: anti-gravitropic offset)のバランスによって決定されるという仮説が提唱されているが、本研究ではこの歴史的な仮説を遺伝子レベルで検証し、地上部及び地下部、また主軸、側生器官の伸長方向制御の統一的原理を追究することを目指した。

3. 研究の方法

(1) lzy多重変異体の側方器官の抗重力屈性様表現型は重力応答か。

lzy1 lzy2 lzy3三重変異体の側枝は下方に、lzy2 lzy3 lzy4三重変異体の主根および側根は上方に伸長する。これら伸長方向が重力に応答した結果決定されているのか、あるいは単なる上偏もしくは下偏成長の結果であるのかを調べた。根については、プレート上に播種した植物を3Dクリノスタット上で生育させ、伸長方向を観察した。側枝については、サイズの問題でクリノスタットに乗せることができないので、側枝が2cm程度伸長する時期に鉢ごと逆さにして重力方向を変化させたのち、伸長方向を観察した。

(2) lzy多重変異体の側方器官の抗重力屈性様表現型は重力屈性と同じ重力受容機構を必要とするか。

重力屈性では、重力感受細胞内のアミロプラストが重力方向へ移動することによって重力刺激を受容する。そこで、アミロプラストにデンブンを蓄積できず重力屈性の低下した変異体 phosphoglucosyltransferase (pgm), 地上部の重力感受細胞である内皮細胞の形成不全によって重力屈性能を失った scr-3/sgr1-1, shr-3/eal1 と、lzy1 lzy2 lzy3, lzy2 lzy3 lzy4 三重変異体とを交配し、4重変異体の抗重力屈性様表現型を観察する。

(3) 抗重力屈性様表現型に関与する遺伝子を探索する。

lzy2 lzy3 lzy4 三重変異体の根は、垂直に立てた培地上で上方(GSA=180°)に向かって伸長する。これにEMS処理を行ってさらに変異を導入し、根のGSAを減少させる変異体のスクリーニングを行う。この変異は、根の抗重力屈性様表現型を失わせる変異である可能性が高い。

4. 研究成果

(1) *lzy* 多重変異体の側方器官の抗重力屈性様表現型は重力応答か。

主根および側根が上方に伸長する *lzy2 lzy3 lzy4* 三重変異体について播種後プレートを3Dクリノスタット上で回転させながら2週間生育させた。3Dクリノスタットは擬似微小重力環境を生じる装置であり、植物は重力方向の認識ができない。その結果、*lzy2 lzy3 lzy4* 三重変異体の主根および側根は、野生型と同様にランダムな方向に伸長した。さらに、播種後プレートを立てて1g環境下で7日間生育させた後、プレートを180°回転させて重力方向を変化させた。回転前に上方に成長していた *lzy2 lzy3 lzy4* 三重変異体の主根および側根は、回転後成長方向を変え、新たに上方に向かって成長した。これらの結果から、*lzy2 lzy3 lzy4* 三重変異体の根が示す抗重力屈性様の反応は、重力に応答して生じるものであることが判った。

野生型側枝は、180°回転させた後に伸長方向を新たな上方に変化させ、120分後にはほぼ通常の側枝の伸長方向となった。一方、側枝が下方に伸長する *lzy1 lzy2 lzy3* 三重変異体については、180°回転後は10時間程度水平方向に伸長した後、15時間から30時間後に伸長方向を変化させ、新たな下方に屈曲した。したがって、*lzy1 lzy2 lzy3* 三重変異体の側枝が示す抗重力屈性様の反応は、重力に応答して起こる反応であると言える。

(2) *lzy* 多重変異体の側方器官の抗重力屈性様表現型は重力屈性と同じ重力受容機構を必要とするか。

上述の様に *lzy* 多重変異体の側方器官の抗重力屈性様反応は重力応答であることが判った。重力屈性の重力受容機構と抗重力屈性様反応との関連性を、四重変異体の表現型解析により調べた。

pgm 変異体の主根の伸長方向は、野生型に比較してばらつくが、ほとんどが水平よりも下方に伸長した。一方、*lzy2 lzy3 lzy4* 三重変異体の主根の伸長方向はばらつきが大きいもののほとんどが水平よりも上方に伸長した。*pgm lzy2 lzy3 lzy4* 四重変異体の主根の伸長方向は、全方向にばらつき、*lzy2 lzy3 lzy4* 親株の抗重力屈性様表現型は抑圧されたといえる。この結果から、*lzy2 lzy3 lzy4* の抗重力屈性様反応は、重力屈性と同様に沈降性のアミロプラストに依存した重力感受システムを必要とする可能性が考えられた。

地上部の重力感受細胞である内皮細胞の分化不全を引き起こす *scr-3/sgr1-1*, *shr-3/eal1* はいずれも側枝がほぼ水平方向に伸長した。*scr-3/sgr1-1 lzy1 lzy2 lzy3*, *shr-3/eal1 lzy1 lzy2 lzy3* 四重変異体はいずれも側枝がほぼ水平に伸長した。更に、180°回転後の側枝の応答を観察したところ、*scr-3/sgr1-1*, *shr-3/eal1*, *scr-3/sgr1-1 lzy1 lzy2 lzy3*, *shr-3/eal1 lzy1 lzy2 lzy3* はいずれも側枝がほぼ水平方向に伸長した。従って、*lzy1 lzy2 lzy3* の抗重力屈性様表現型は、感受細胞の分化不全によって抑圧されたといえる。これらの結果から、*lzy1 lzy2 lzy3* の抗重力屈性様反応は、内皮の機能を必要とする可能性、さらに言えば根と同様に重力屈性と同様の重力感受システムを必要とする可能性が示唆された。

(3) 抗重力屈性様表現型に関与する遺伝子を探索する。

我々は、*lzy2 lzy3 lzy4* の主根の表現型は *LZY* 遺伝子の機能欠損によって抗重力屈性的成長成分 (AGO) が顕在化したと捉え、AGO に対する遺伝学的裏付けを探り、GSA 制御機構の解明につなげることを目的として、*lzy2 lzy3 lzy4* の抑圧変異体のスクリーニングを行った。*lzy2 lzy3 lzy4* 種子を EMS で処理して得られた M2 世代 121,200 個体に対して、主根が水平面より下に伸長していることを基準として一次スクリーニングを行った。選抜した 709 個体について、側根の伸長方向を指標に二次スクリーニングを行い、103 系統の M3 種子を採取した。三次スクリーニングとして 103 系統すべてについて主根の伸長角度の定量解析を行い、最終的に抑圧変異体 9 系統を得た。これら 9 系統すべてにおいてアミロプラストへのデンプン蓄積が観察されたことから、これらの抑圧変異は *pgm* とは異なる形で *lzy2 lzy3 lzy4* 三重変異体の表現型を抑圧したと考えられる。今後、抑圧変異体を詳細に解析し原因遺伝子を同定していくことで、GSA 制御機構の解明の糸口となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 古谷将彦、西村岳志、森田（寺尾）美代	4. 巻 55
2. 論文標題 植物の重力屈性の分子メカニズム－根が地中に潜り茎が空へ向かうしくみ	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 624-630
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi.org/10.1271/kagakutoseibutsu.55.624	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川本望，神戸優汰，山川明子，森田(寺尾)美代
2. 発表標題 Genetic analysis of anti-gravitropic offset in Arabidopsis
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神戸優汰，中村守貴，森田(寺尾)美代
2. 発表標題 lzy2 lzy3 lzy4 三重変異体の抑圧変異体の単離
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	川本 望 (Kawamoto Nozomi)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	神戸 優汰 (Kanbe Yuta)		
研究協力者	中村 守貴 (Nakamura Moritaka)		