

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05757

研究課題名(和文) シロイヌナズナにおけるストリゴラクトン生合成調節メカニズムの解明

研究課題名(英文) Regulation of strigolactone biosynthesis in Arabidopsis

研究代表者

米山 香織 (YONEYAMA, KAORI)

愛媛大学・農学研究科・准教授

研究者番号：20769997

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナの野生型(Col-0)において、窒素欠乏がストリゴラクトン(SL)生合成遺伝子の発現を顕著に促進し、Atd14変異体においては、主要なSLが窒素欠乏によって蓄積することを明らかにした。さらに地上部基部や地下部で、SL生合成経路の中間に位置し、カラクトンからカラクトン酸への変換を触媒するMAX1の発現が、明期開始後3時間以内に最も高くなることを確認した。すなわち、シロイヌナズナを窒素欠乏条件下で培養し、明条件開始3時間以内にサンプリングすることより、安定的にSLを検出できることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の生長において重要な二次代謝産物であるストリゴラクトンを、実際の農業生産に利用する研究の重要性が高まっている。しかしストリゴラクトンは、化学的に不安定で壊れやすく、植物の生産・分泌量が微量であるため、その生合成経路、生合成・調節メカニズムの詳細については不明な点が多い。また植物ホルモンとしての活性自体も特定されていない。本研究では、モデル植物のシロイヌナズナのストリゴラクトン生合成を促進する条件を見出すことに成功した。今後、その条件下で豊富に存在するシロイヌナズナの変異体を栽培し、ストリゴラクトンの解析を進めることにより生合成調節メカニズムの解明につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In *Arabidopsis thaliana* (Col-0), nitrogen deficiency significantly promoted the expression of strigolactone (SL) biosynthetic genes. In Atd14 mutants, carlactone and methyl carlactonoate, major SLs of *Arabidopsis*, accumulated under nitrogen deficiency. Furthermore, the expression of MAX1, which is involved in the conversion of carlactone into carlactonoic acid, increased within 3 hours after beginning of light period. These results suggest that for successful SL detection/quantification in *Arabidopsis*, it is better to grow plants under nitrogen deficiency and harvest them within 3 hours after beginning of light period.

研究分野：植物生理学

キーワード：ストリゴラクトン シロイヌナズナ LC-MS/MS

1. 研究開始当初の背景

ストリゴラクトン(SL)は植物の根から分泌され、土壌根圏では、根寄生植物の寄生およびアーバスキュラー菌根(AM)菌の共生を制御するシグナル物質である。一方植物体内では、植物の地上部枝分かれを抑制する新奇植物ホルモンとして作用する(図1)。さらに、根の形態形成、二次成長、葉の老化促進など、植物の生長・分化に深く関与していることが次々と報告され、SLを農業生産に利用する研究の重要性が高まっている。しかしSLは、化学的に不安定で壊れやすく、植物の生産・分泌量が微量であるため、その生合成経路、生合成・調節メカニズムの詳細については不明な点が多い。また植物ホルモンとしての活性本体も特定されていない。

AM菌の宿主植物であるイネやトマトなどでは、養分欠乏特にリン酸欠乏条件下でSLの生産・分泌が飛躍的に促進される。一方、AM菌の非宿主植物であるシロイヌナズナでは、養分欠乏条件下でSLの生産・分泌は変動しないと考えられているが、シロイヌナズナの主要なSLがABC環構造を持たない不安定な非典型的SL(図2)であるため、化学分析が困難で詳細な解析が行われていない。一方、窒素欠乏やリン酸欠乏はシロイヌナズナの地上部枝分かれを抑制するため、養分欠乏は地上部枝分かれ抑制活性本体や前駆体と考えられるSL内生量を上昇させる可能性が考えられた。

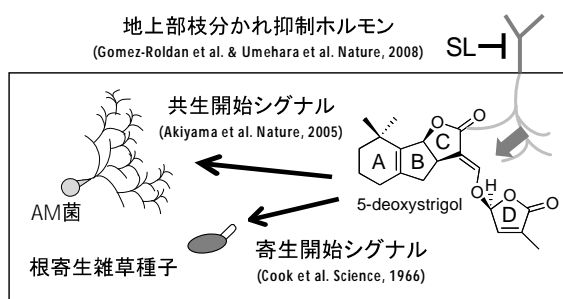


図1. これまでに約30種類のSLが単離構造決定されている。

図中の5-deoxystrigolはABC環構造を持つ代表的な典型的SLで、ミヤコグサの根浸出液からAM菌の共生開始シグナル物質として単離構造決定された。

2. 研究の目的

本研究では、養分欠乏条件を第一の候補として、モデル植物のシロイヌナズナのストリゴラクトン生合成を促進する条件を見出し、シロイヌナズナにおけるストリゴラクトン生合成調節メカニズムの解明を目指すことを目的として進めてきた。

3. 研究の方法

山口信次郎教授(前東北大学、現京都大学)のグループは、シロイヌナズナのSL生合成前駆体であるcarlactone(CL)の内生量にはリン酸欠乏が影響を与えないことを報告している。イネではリン酸欠乏によりイネの主要なSLの一つである4-deoxyorobancholの内生量は増加するがCLは変動しない(Seto et al. 2016)。すなわちシロイヌナズナでも、養分欠乏がCLより下流のSLの生合成に影響を与える可能性が考えられた。そこでシロイヌナズナを窒素あるいはリン酸欠乏条件下で培養後に、CLより下流で生合成されるSL(図2)内生量を、高速液体クロマトグラフィータンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いて調べた。またSL生合成遺伝子発現をreal time PCRを用いて定量した。

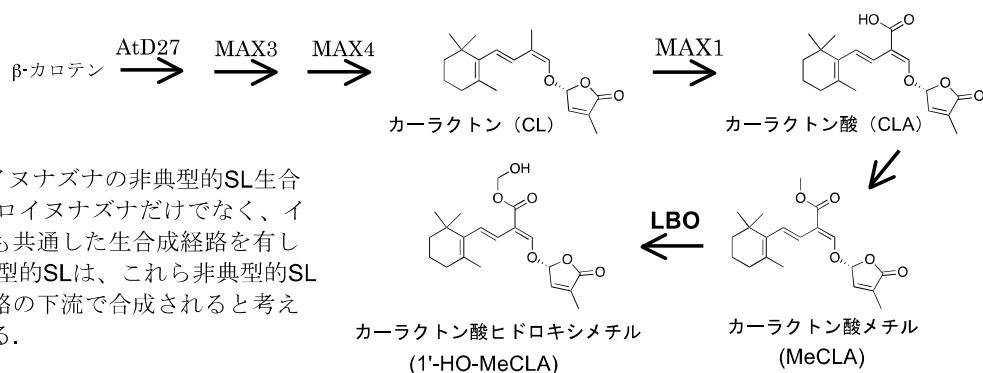


図2.シロイヌナズナの非典型的SL生合成経路.シロイヌナズナだけでなく、イネなどでも共通した生合成経路を有している.典型的SLは、これら非典型的SL生合成経路の下流で合成されると考えられている。

4. 研究成果

(1) 窒素欠乏が Col-0 の SL 生合成に与える影響の解明

窒素を control の 1/10 に低下させた条件を窒素欠乏条件とし、野生型 (Col-0) を 2 週間培養した。その結果、窒素欠乏条件下では、地上部バイオマス量は顕著に低下 (図 3A)、有意差は認められなかったものの地上部枝分かれ数が減少 (図 3B) し、SL 生合成遺伝子の発現量の有意な増加が認められた (図 3C)。

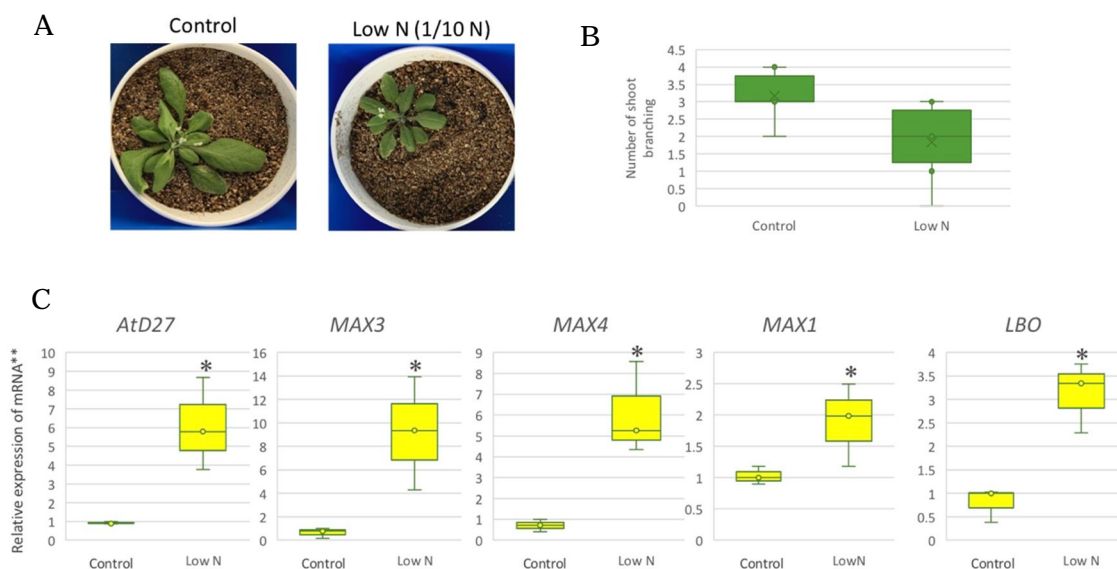


図 3. 窒素欠乏の影響

(A) シロイヌナズナの地上部の様子 (B) 地上部枝分かれ数 (C) SL 生合成遺伝子発現量

(2) 窒素欠乏が *Atd14* 変異体の SL 生合成に与える影響の解明

実際に窒素欠乏が *Atd14* 変異体の内生 SL 含量に与える影響を調べたところ、与える窒素を低下させるに従って、地上部基部および地下部の新鮮重あたりの CL および MeCLA 含量が増加した。

(3) 概日リズムが内生 SL 含量に与える影響の解明

地上部枝分かれが 60% 程度低下する窒素欠乏条件下で Col-0 を 4 週間培養後に、8:00 (明条件開始から 2 時間後)、13:00、および 18:00 に、地上部基部と根をサンプリングし、SL 生合成遺伝子の発現量を調べた。興味深いことに、SL 骨格をもつ生合成の最も上流に位置する carlactone から、多様なストリゴラクトンの前駆体となる carlactonoic acid への変換に関与する *MAX1* (図 2) の発現は、地上部基部および根の両方で、8:00 に顕著に高くなっていた。一方、SL 生合成の上流で作用する *AtD27* は、地上部基部では *MAX1* 同様に 8:00 発現量が高かったが、根では時系列間に差は認められなかった。その他の生合成遺伝子は、発現量に明確な変化は認められなかった。

以上をまとめると、シロイヌナズナを窒素欠乏条件下で培養し、明条件開始 3 時間以内にサンプリングすることより、安定的に SL を検出できることが示唆されたため、この条件で様々なシロイヌナズナの変異体を培養し、内生 SL を精査することにより、シロイヌナズナにおける SL 生合成調節メカニズムの解明へとつながることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yoneyama Kaori, Xie Xiaonan, Nomura Takahito, Yoneyama Koichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Do Phosphate and Cytokinin Interact to Regulate Strigolactone Biosynthesis or Act Independently?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.00438	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kaori Yoneyama et al	4. 巻 4
2. 論文標題 Hydroxyl Carlactone derivatives are predominant strigolactones in Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Direct	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pld3.219	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Koichi Yoneyama et al	4. 巻 75
2. 論文標題 Regulation of biosynthesis, perception, and functions of strigolactones for promoting arbuscular mycorrhizal symbiosis and managing root parasitic weeds	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pest Management Science	6. 最初と最後の頁 2353-2359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ps.5401	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Xiaonan Xie et al	4. 巻 157
2. 論文標題 Lotuslactone, a non-canonical strigolactone from Lotus japonicus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Phytochemistry	6. 最初と最後の頁 200-205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytochem.2018.10.034	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Narumi Mori et al	4. 巻 174
2. 論文標題 Chemical identification of 18-hydroxycaractonoic acid as an LjMAX1 product and in planta conversion of its methyl ester to canonical and non-canonical strigolactones in Lotus japonicus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Phytochemistry	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytochem.2020.112349	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Yoda Akiyoshi, Mori Narumi, Akiyama Kohki, Kikuchi Mayu, Xie Xiaonan, Miura Kenji, Yoneyama Kaori, Sato Izawa Kanna, Yamaguchi Shinjiro, Yoneyama Koichi, Nelson David C., Nomura Takahito	4. 巻 232
2. 論文標題 Strigolactone biosynthesis catalyzed by cytochrome P450 and sulfotransferase in sorghum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 1999 ~ 2010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.17737	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoneyama Kaori, Brewer Philip B	4. 巻 63
2. 論文標題 Strigolactones, how are they synthesized to regulate plant growth and development?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Plant Biology	6. 最初と最後の頁 102072 ~ 102072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pbi.2021.102072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miura Hinako, Ochi Ryota, Nishiwaki Hisashi, Yamauchi Satoshi, Xie Xiaonan, Nakamura Hidemitsu, Yoneyama Koichi, Yoneyama Kaori	4. 巻 11
2. 論文標題 Germination Stimulant Activity of Isothiocyanates on Phelipanche spp.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants11050606	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ochi Ryota、Yoneyama Kaori、Nishiwaki Hisashi、Yamauchi Satoshi	4. 巻 86
2. 論文標題 Structure-activity relationship of the aromatic moiety of 6-substituted 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one to find the novel compound showing higher plant growth inhibitory activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 165 ~ 169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab185	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 米山 香織	4. 巻 46
2. 論文標題 ストリゴラクトン生合成経路と地上部枝分かれ抑制活性本体の解明?地上部枝分かれ抑制活性本体を追え?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Pesticide Science	6. 最初と最後の頁 177 ~ 178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1584/jpestics.W21-16	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13件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 Do rice plants sense SLs exuded in the rhizosphere to regulate SL production?
3. 学会等名 The 23rd International Conference on Plant Growth Substances (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 Characterization of germination stimulants fro P. ramosa.
3. 学会等名 The 15th World congress on Parasitic Plants (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 Characterization of parasitic plant-host plant relationship
3. 学会等名 Plant health and quality, summer school in France (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山香織
2. 発表標題 寄生および共生をコントロールする植物化学調節物質
3. 学会等名 日本農芸化学会中国支部市民フォーラム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 How are strigolactone production and exudation regulated in rice plants?
3. 学会等名 International Symposium on the Future Direction of Plant Science by Young Researchers (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山香織
2. 発表標題 新奇植物ホルモン-ストリゴラクトン-の農業応用への可能性
3. 学会等名 愛媛県農林水産研究所合同研修会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山香織
2. 発表標題 Strigolactone Story
3. 学会等名 農芸化学会中国四国支部若手シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 Regulation mechanism of strigolactone production in rice plants
3. 学会等名 Workshop on Parasitic Plant and Strigolactone (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山香織
2. 発表標題 イネのストリゴラクトン生産・分泌制御メカニズム
3. 学会等名 植物化学調節学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山香織
2. 発表標題 ストリゴラクトン生産・分泌の環境応答
3. 学会等名 日本植物生理学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米山香織
2. 発表標題 根圏に分泌されるストリゴラクトンの新たな機能とその分子制御メカニズム
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 The possibility of strigolactones for plant-plant communication
3. 学会等名 3rd International congress on Strigolactones（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kaori YONEYAMA
2. 発表標題 Strigolactones, how are they synthesized to regulate plant growth and development?
3. 学会等名 The fourth webinar of the IRN France-Japan Frontiers in Plant Biology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Kaori YONEYAMA	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Cold spring Harbor Perspectives in Biology	5. 総ページ数 231
3. 書名 Engineering Plant for Agriculture	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------