

令和 4 年 5 月 9 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05852

研究課題名(和文)根寄生植物による超高感度ストリゴラクトン認識メカニズムの解明

研究課題名(英文)Studies on hyper-sensitive strigolactone perception mechanism by parasitic plants

研究代表者

瀬戸 義哉 (Seto, Yoshiya)

明治大学・農学部・専任准教授

研究者番号：40620282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ハマウツボ科の根寄生雑草は、宿主の根から分泌されるストリゴラクトン(SL)分子を高感度に認識することで発芽し、宿主に寄生する。根寄生植物のうち、*Striga hermonthica*では、SL受容体が多数存在することが報告されており、特にそのうちの1つであるShHTL7はSLに対する感受性が極めて高い。本研究では、この高感受性のメカニズムを解明することを最終的な目的とした。感受性の要因を明らかにする目的で、これまでSL受容体の同定がなされていなかった*S. asiatica*と*Orobancha minor*からSL受容体を同定することに成功し、感受性に関与すると思われる候補アミノ酸を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまでSL受容体が同定されていなかった2種の根寄生植物から、SL受容体を同定することに成功した。いずれの種においても、SLに対する感受性が高い受容体を1つずつ同定することができており、今後、これらのアミノ酸配列を感受性が高くない受容体のアミノ酸配列と比較することにより、感受性を制御するメカニズムの理解につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：The germination of root parasitic plants is induced by the host-derived chemical signals, strigolactone (SL). In a root parasitic plant, *Striga hermonthica*, more than 10 SL receptors have been identified, one of which exhibited extremely high sensitivity toward SL. However, the molecular mechanism for the sensitive SL recognition mechanism has not been clarified. Toward the identification of the hyper sensitive SL perception mechanism, we identified the SL receptors in *Striga asiatica*, and *Orobancha minor*. We successfully identified highly sensitive receptors from each plant species. We also found a candidate amino acid in the highly sensitive receptor sequence. We are currently analyzing the importance of this amino acid by a site directed mutation approach.

研究分野：生物有機化学

キーワード：ストリゴラクトン 根寄生植物 *Striga asiatica* *Orobancha minor* 受容体

## 1. 研究開始当初の背景

根寄生植物は、宿主の根から分泌されるストリゴラクトン (以下 SL) 分子を認識して発芽するという、独自の発芽システムを有している。寄生することなくして生存できない根寄生植物が有する緻密な生存戦略である。かつ、根寄生植物は、極めて低い濃度の SL を認識して発芽することが可能である。2015 年に、これら根寄生植物の中でも、アフリカで甚大な農業被害をもたらしているストライガ (*Striga hermonthica*) の SL 受容体が同定された。本受容体は、非寄生植物における SL 受容体として同定されていた D14 のパラログである HTL/KAI2 ファミリーに属している。非寄生植物において、HTL/KAI2 は、カリキンとよばれる煙由来の発芽誘導分子を認識する受容体として機能するが、根寄生植物においては、これらの HTL/KAI2 が高度に重複しており、その多くは、根寄生植物独自のクレードを形成しており、KAI2d (KAI2 divergent) と呼ばれている。かつ、その多くがカリキンではなく SL を認識する受容体として機能することが明らかになった。さらに、*S. hermonthica* が有する HTL/KAI2 のうち、HTL7 は SL に対して極めて高い感受性を有することが明らかになっている。一方で、この高感受性のメカニズムについては不明であった。また、*S. hermonthica* は、ストライガ属に属し、絶対半寄生植物であり、葉緑体も有しているが、オロバンキ属の根寄生植物は、葉緑体ももたない絶対全寄生の植物である。研究開始当初、これら種々の根寄生植物のうち SL 受容体が同定されていたのは、*S. hermonthica* のみであった。オロバンキ属も、ストライガ属と同じく、高い SL 感受性を有するとともに、系統樹解析により、*S. hermonthica* の SL 受容体と同様のクレードに属する HTL/KAI2 を複数有していることから、これらが SL 受容体として機能することが予想された。

## 2. 研究の目的

本研究では、根寄生植物による高感度な SL 認識メカニズムを明らかにすることを大きな目的とした。特に、*S. hermonthica* から見出された HTL7 は、*S. hermonthica* が有する多数の HTL と比較しても突出して高い感受性を示す。この分子基盤を解明することを目的とした。特に、HTL7 と最も相同性が高い HTL8 は、HTL7 のように高い感受性を示さないことから、両者の配列を比較することにより、感受性に重要な残基を特定することができると考えた。また、上記の通り、SL 受容体は、根寄生植物の中でも *S. hermonthica* のみで同定されていたが、他の根寄生植物からも SL 受容体を同定し、感受性の高い受容体とそうではない受容体の配列に関する情報を多数取得することにより、感受性に関わるアミノ酸残基の同定につながると考え、*S. hermonthica* と同様にストライガ属の *S. asiatica*、ならびにオロバンキ属の *Orobancha minor* についても SL 受容体の同定を行うこととした。

## 3. 研究の方法

寄生植物の受容体の機能解析においては、シロイヌナズナの *kai2* 変異体に、該当する寄生植物由来の HTL 受容体を発現させた形質転換体を作成し、その高温発芽阻害が SL 依存的に回復するというアッセイ系を利用して評価を行った。また、*in vitro* における SL との相互作用においては、熱変性温度の変化を指標に低分子との相互作用を評価可能な Differential Scanning Fluorimetry (DSF) 法を利用した。

## 4. 研究成果

### ① *S. asiatica* ならびに *O. minor* 由来 HTL の SL 受容体としての機能解析

*S. asiatica* は、全ゲノム解読がなされており、*S. hermonthica* と同様に、10 個以上の *KAI2d* 遺伝子を有することが明らかになっている (図 1)。その中で、ShHTL4, 6, 7, 8, 9 と相同性の高いものを選抜し (それぞれ、SaKAI2d1, 4, 8, 13, 14)、シロイヌナズナの *kai2* に導入した形質転換体を作成した。これらの形質転換体を用い、SL 合成アナログである GR24 による、高温発芽阻害の回復を指標に、導入した受容体の機能を評価した。その結果、ShHTL7 との相同性が最も高い SaKAI2d13 を導入した形質転換体においては、50 pM の GR24 添加によって、発芽阻害の回復がみられた。このことから、*S. asiatica* においても、ShHTL7 ホモログが高い SL 感受性を有していることが明らかになった。また、DSF 実験においても、SaKAI2d13 は、GR24 依存的な変性温度の低下がみられたことから、SaKAI2d13 が ShHTL7 と同様に、感受性の高い SL 受容体として機能することが明らかになった。

日本国内でも自生するヤセウツボ (*O. minor*) においては、*KAI2d* 遺伝子が少なくとも 5 つ存在することが明らかになっている (OmKAI2d1, 2, 3, 4, 5) (図 1)。よって、*S. asiatica* の際と同じように、シロイヌナズナの *kai2* にて発現させた組み換え体を用いて、SL 感受性を評価した。その結果、OmKAI2d3 を導入した種子において、50 nM の GR24 添加によって高温発芽阻害が回復した。さらに、OmKAI2d4 を導入した場合には、OmKAI2d3 を導入した形質転換体ほどの感受性ではなかったものの、GR24 依存的な高温発芽阻害の回復がみられたことから、これらの二つの

遺伝子産物が SL 受容体としての機能を有していることが明らかになった。また、DSF 解析においても、OmKAI2d3, OmKAI2d4 は、GR24 依存的な変性温度の低下がみられたため、両者が SL 受容体として機能することが明らかになった。

②ShHTL7 と ShHTL8 の比較に基づいた、高感受性に関わるアミノ酸残基の探索

上記の通り、ShHTL7 は、SL 感受性が極めて高い一方で、ShHTL7 と最も相同性が高い ShHTL8 は SL に対する感受性が 1000 倍程度低い。また、同様の傾向は、SaKAI2d13 と SaKAI2d14 においてもみられたため、これらのアミノ酸配列を比較することで、感受性に関わるアミノ酸残基の探索を試みた。その結果、ShHTL7, SaKAI2d13 に共通し、ShHTL8, SaKAI2d14 においては異なるアミノ酸残基であり、かつ、リガンド結合部位付近に存在するアミノ酸残基を一つ見出した。ShHTL7 において、本アミノ酸残基を HTL8 型に変異した変異型受容体を作成し、シロイヌナズナの *kai2* に導入した形質転換体を作成し、SL 感受性を評価した。その結果、変異型受容体においては、SL 感受性が低下する傾向がみられたため、今後再現性を確認していく必要がある。一方で、HTL8 をもとに、同様のアミノ酸残基を HTL7 型に変異した受容体を導入した形質転換体においては、SL 感受性が高くなることはなかった。よって、本アミノ酸が感受性に直接に関与するか否かについては、明確な回答を得ることはできなかった。

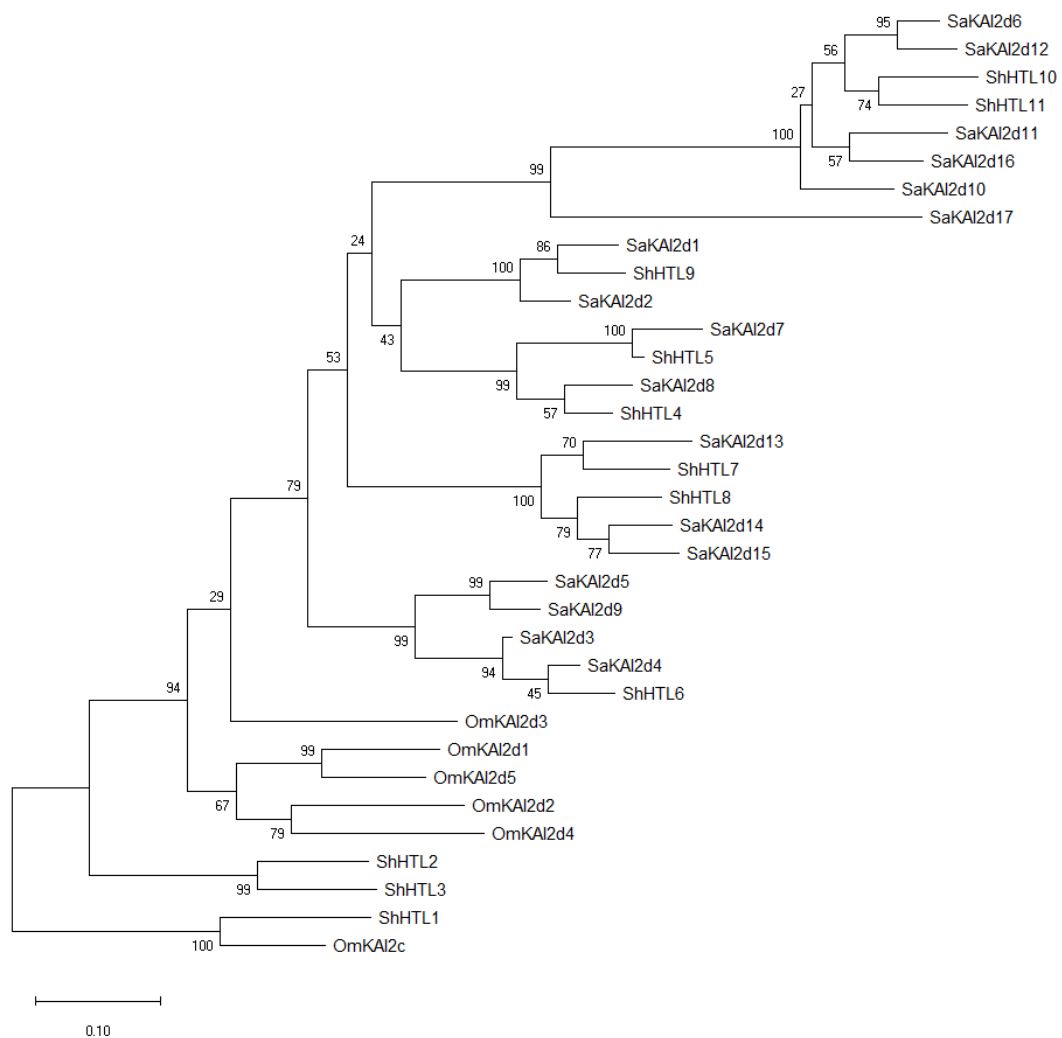


図 1, *Striga hermonthica*, *Striga asiatica*, *Orobanche minor* 由来 HTL/KAI2 の系統樹解析

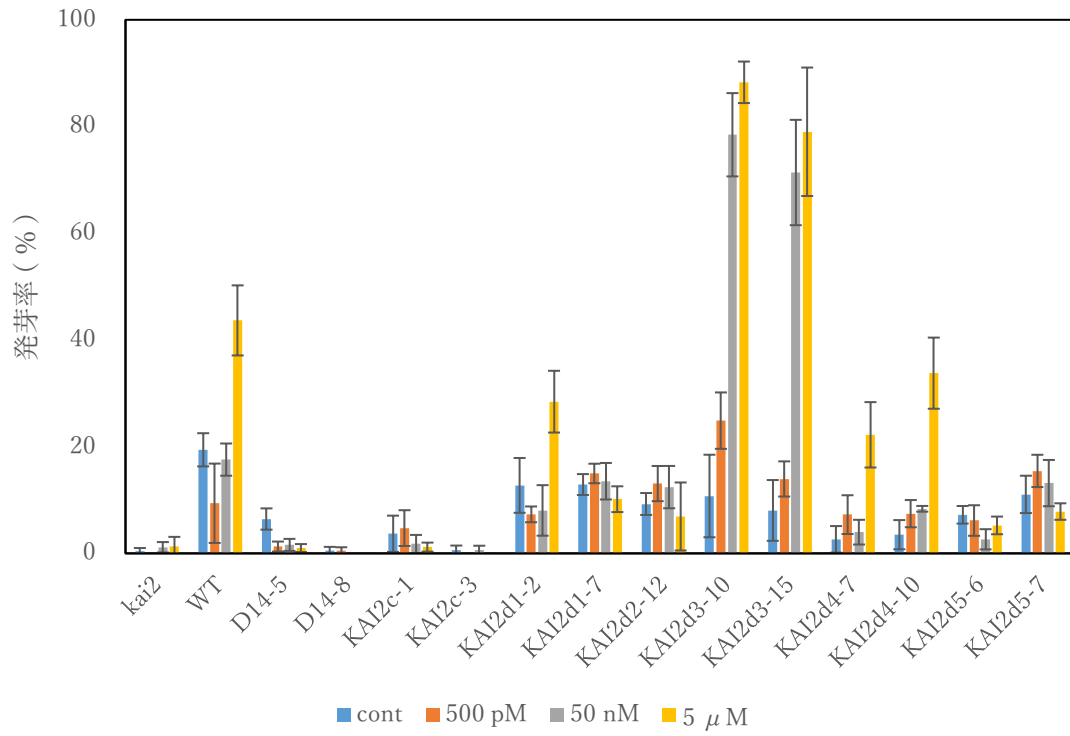


図 2, 0mKAI2d を導入した形質転換体種子の、GR24 添加による高温発芽阻害の回復試験

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takeuchi Jun, Fukui Kosuke, Seto Yoshiya, Takaoka Yousuke, Okamoto Masanori	4. 巻 105
2. 論文標題 Ligand-receptor interactions in plant hormone signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 290 ~ 306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.15115	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 -

1. 著者名 Mashiguchi Kiyoshi, Seto Yoshiya, Yamaguchi Shinjiro	4. 巻 105
2. 論文標題 Strigolactone biosynthesis, transport and perception	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 335 ~ 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.15059	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 -

1. 著者名 Yoshida Satoko et al	4. 巻 29
2. 論文標題 Genome Sequence of <i>Striga asiatica</i> Provides Insight into the Evolution of Plant Parasitism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 3041 ~ 3052.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.07.086	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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鈴木泰輝、来馬道生、大杉、佳乃、瀬戸義哉
2. 発表標題 ケイヒ酸を骨格とした新規ストリゴラクトンアナログの合成
3. 学会等名 植物化学調節学会第56回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 来馬道生、鈴木泰輝、瀬戸義哉
2. 発表標題 根寄生植物の発芽に及ぼすトリプトファン関連分子の作用について
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 来馬道生、謝肖男、瀬戸義哉
2. 発表標題 ストリゴラクトン様化合物を生産する微生物の探索
3. 学会等名 植物化学調節学会第55回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshiya Seto, Rei Yasui, Hiromu Kameoka, Rena Hirano, Kohki Akiyama, Kiyoshi Mashiguchi, Junko Kyozyuka, Shinjiro Yamaguchi
2. 発表標題 The perception mechanism of strigolactones by a hydrolase receptor, DWARF14
3. 学会等名 IPGSA conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀬戸義哉
2. 発表標題 ストリゴラクトン様活性分子を生産する微生物の探索
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会北海道支部第1回学術講演会(招待講演)
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------