

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06329

研究課題名(和文) 根の屈性間相互作用・水分屈性発現機構の変化が根系形成と植物の生育に与える影響

研究課題名(英文) Effects of differences of properties of root hydrotropism on root system development and plant growth

研究代表者

藤井 伸治 (Fujii, Nobuharu)

東北大学・生命科学研究科・准教授

研究者番号：70272002

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)：本研究では、シロイヌナズナの217種の自然変異体間の静置区での水分屈性を比較した。その結果、水分屈性によりほとんど屈曲しない自然変異体から、野生型(Col-0)の2倍ほどまで屈曲する自然変異体まであり、シロイヌナズナの自然変異体の水分屈性の発現は多様であることが明らかになった。そして、GWASにより、根の水分屈性の発現に影響を与える非同義多型を含む遺伝子を見出した。今後、本GWASの結果に注目した研究を展開することにより、根の重力屈性による水分屈性への干渉作用の分子機構が明らかになると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水分屈性の発現は、重力屈性の発現に干渉されるが、その程度は植物種により異なる。すなわち、エンドウ、キュウリなどの大きな植物では、水分屈性に比べて重力屈性が強く発現するが、シロイヌナズナ、ミヤコグサ、イネなどの小さな植物では、重力屈性に比べて水分屈性が強く発現する。しかしながら、異なる植物種間の比較からでは、水分屈性と重力屈性の相互作用を担う遺伝子の特定が困難であった。本研究により、シロイヌナズナの自然変異体間でも、重力屈性による水分屈性の発現抑制の程度は多様であることが明らかとなり、今後、本知見に注目した研究により、水分屈性と重力屈性の相互作用の差異が生じる分子機構が明らかになると期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we compared root hydrotropism in various natural variants of Arabidopsis under stationary conditions. As a result, we detected the diversity of root hydrotropism under stationary conditions among natural Arabidopsis variants, from natural variants that do not almost express root hydrotropism to other natural variants that hydrotropically bend more than 2 time than wild-type (Col-0). In addition, Genome wide association study (GWAS) identified nonsynonymous polymorphisms that affect root hydrotropism in a stationary condition in several genes. Continuously researching the genes containing the nonsynonymous polymorphisms will provide a new insight of interaction between root hydrotropism and root gravitropism in future.

研究分野：植物生理

キーワード：水分屈性 シロイヌナズナ 自然変異体 GWAS 重力屈性

1. 研究開始当初の背景

植物の根は養水分の吸収に機能するため、土壌中での根系の形成は、植物体の生育に重要である。根の伸長方向の決定は、屈性により制御され、土壌中での根系の形成・発達に影響すると考えられる。植物の根の重力屈性に対する水分屈性の強度には種間差が存在する。すなわち、エンドウ、キュウリなどの比較的大きな草本植物(大型草本植物)では、水分屈性に比べて重力屈性が強く発現するのに対し、シロイヌナズナ、ミヤコグサ、イネなどの小さな草本植物(小型草本植物)では、重力屈性に比べて水分屈性が強く発現する^{①②③④}。このことから、大型草本植物の根では、水分屈性の発現に比べて重力屈性がより強く発現し、根を地中深くまで侵入させた後に、根系が発達し、より多くの養水分を吸収し、地上部の活発な成長を支えていると予想される。一方、小型草本植物の根では、重力屈性に比べて水分屈性が強く発現するために、根は地中深くまでは侵入せずに水分屈性が発現し、根系が地表表面の近くの土壌中で発達すると考えられる。これらの知見は異なる植物種(イネ、キュウリ、エンドウ、ミヤコグサ、シロイヌナズナ)間の比較であり、本知見の分子生物学的な理論への発展が困難であった。

2. 研究の目的

これまでに、シロイヌナズナでは異なる自然変異体の Columbia-0 (Col-0)、C24、Wassilewskija (Ws) での水分屈性が比較されており、静置条件下での水分屈性による屈曲角度は $C24 < Col-0 < Ws$ となることが報告されていた^⑤。本知見は、シロイヌナズナの自然変異体間では根の水分屈性の発現の程度が異なる可能性を示していた。そして、近年、シロイヌナズナでは、1135 の自然変異体のゲノム塩基配列が決定されるとともに、Genome-wide association study (GWAS) のための WEB アプリケーションが整備されている^{⑥⑦}。そこで、本研究では、シロイヌナズナの自然変異体間での根の水分屈性を比較するとともに、GWAS によりシロイヌナズナの自然変異体間での根の水分屈性の差異を担う非同義置換の同定を試みた。

3. 研究の方法

本研究では、ゲノム塩基配列が決定された 217 のシロイヌナズナの自然変異体の静置条件下での水分屈性による屈曲角度を比較した。そのため、MS 寒天培地とソルビトールを含む MS 寒天培地を張り合わせ水分勾配を形成させたプレートにシロイヌナズナを移植し、プレートを垂直に立て、暗所で 24 時間生育させた後の根の屈曲角度を測定した^⑧。

4. 研究成果

(1) シロイヌナズナの自然変異体の水分屈性の多様性

シロイヌナズナの自然変異体の静置区での水分屈性による屈曲角度を測定した結果、シロイヌナズナの自然変異体では、Cvi-0、MNF-Pot-75 のようにほとんど屈曲しない自然変異体から、Vash-1 のように Col-0 の 2 倍ほど屈曲する自然変異体へと徐々に変化することが明らかとなった^⑧。実験に用いたいくつかの自然変異体の種子を採種し、後代での再現性を確認した^⑧。特に、Cvi-0、MNF-Pot-75 は静置条件下では水分屈性により屈曲しなかった。次いで、これらの重力屈性を解析した結果、Cvi-0、MNF-Pot-75 では、他の自然変異体に比べ重力屈性の屈曲の低下が認められ、一方、Cvi-0、MNF-Pot-75 以外の解析した自然変異体間では有意差は認められなかった^⑧。したがって、静置区で水分屈性の発現が低下する自然変異体は Cvi-0、MNF-Pot-75 のように水分屈性と重力屈性の両方の発現が低下する自然変異体と、Kas-2 のように水分屈性の発現は低下するが、重力屈性の発現は低下しない 2 つのグループに分けられることが示された。

シロイヌナズナの自然変異体間での根の重力屈性と水分屈性との相互作用の差異を比較するため、3D クリノスタットによる擬似微小重力条件が、5 種類の自然変異体の根の水分屈性の発現に与える影響を解析した。その結果、実験に用いた自然変異体はいずれも静置区に比べて、3D クリノスタット条件下での水分屈性による屈曲角度が顕著に増大した^⑧。したがって、根の重力屈性による根の水分屈性の干渉作用は、シロイヌナズナの自然変異体間で比較的保存されていると考えられた。

(2) シロイヌナズナの自然変異体間の水分屈性の多様性を担う遺伝子の同定

シロイヌナズナの自然変異体間での根の水分屈性の多様性を担う遺伝子を同定するため、静置区での根の屈曲角度を用いて GWAS を行った。その結果、いくつかの遺伝子について、水分屈性の発現に影響を与えうるアミノ酸の非同義置換を引き起こす多型が見出された。そのうちの 1 つが MYB52 タンパク質の 227 番目のプロリンからアルギニンへの非同義置換を引き起こ

す多型であった^⑧。もし、非同義多型が自然変異間での水分屈性の発現の差異に影響を与えているのであれば、本遺伝子の機能欠損も水分屈性の発現に影響を与えると期待される。そこで、*MYB52* 遺伝子への T-DNA の挿入系統 (SALK_138624C; *myb52* 変異体) で期待通り *MYB52* 遺伝子へ T-DNA が挿入されていることを確認した後、野生型 (Col-0) と *myb52* 変異体との水分屈性による屈曲角度を比較した。その結果、静置条件下では両者の間に有意差が認められなかったが、クリノスタット条件下では野生型に比べて *myb52* 変異体の屈曲角度が増大した^⑧。したがって、*MYB52* タンパク質は擬似微小重力条件下で水分屈性を抑制していると考えられた。一方、静置条件下で野生型と *myb52* 変異体間での根の水分屈性による屈曲角度に差異が認められなかったのは、自然変異体間の根の水分屈性の多様性を担う遺伝子は *MYB52* 遺伝子以外にも複数あるためであると考えられた。また、クリノスタット条件下で野生型と *myb52* 変異体間での根の水分屈性による屈曲角度に差異が認められたのは、静置区条件下に比べ、クリノスタット条件下では根の水分屈性による根の屈曲角度の検出感度が高いためであると考えられた。また、野生型 (Col-0) の *MYB52^{wt}* アリル遺伝子を保持する自然変異体に比べ、*MYB52^{P227R}* アリル遺伝子を保持する自然変異体の静置区での根の水分屈性による屈曲角度は大きかった^⑧。機能の欠損が期待される T-DNA 挿入系統 (*myb52* 変異体) で、クリノスタット条件下での水分屈性の発現が増加したため、*MYB52* 遺伝子で認められた非同義多型により、*MYB52* 遺伝子産物の機能は低下すると予想された。*MYB52* タンパク質は転写因子として機能し、*Pectin Methylesterase Inhibitor (PMEI)* 遺伝子の発現を誘導し、細胞壁を構成しているペクチンをメチル化する *Pectin Methylesterase (PME)* の活性を抑制する。その結果、ペクチンのメチル化の状態が変化するため、*MYB52* タンパク質は *PMEI* 遺伝子の発現誘導を介して細胞壁の特性に影響を与えている^⑨。したがって、*myb52* 変異体では、*PMEI* 遺伝子の発現の低下により、根の細胞壁の特性の変化し、水分屈性による屈曲角度が増大したと予想された。今後、本予想の検証により、根の重力屈性と水分屈性の相互作用に関する新知見が得られると期待される。また、*MYB52* 遺伝子以外の、GWAS により シロイヌナズナの自然変異体間での根の水分屈性の多様性を担うと推測された非同義置換を含む遺伝子にも注目した研究を展開することにより、根の重力屈性と水分屈性の相互作用を担う分子ネットワークが明らかになると期待される。

<引用文献>

- ① Kobayashi A, Takahashi A, Kakimoto Y, Miyazawa Y, Fujii N, Higashitani A, Takahashi H. (2007) A gene essential for hydrotropism in roots. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 4724-4729. doi: 10.1073/pnas.0609929104
- ② Mizuno H, Kobayashi A, Fujii N, Yamashita M, Takahashi H. (2002) Hydrotropic response and expression pattern of auxin-inducible gene, *CS-IAA1*, in the primary roots of clinorotated cucumber seedlings. *Plant Cell Physiol* 43: 793-801. doi: 10.1093/pcp/pcf093
- ③ Nakajima Y, Nara Y, Kobayashi A, Sugita T, Miyazawa Y, Fujii N, Takahashi H. (2017) Auxin transport and response requirements for root hydrotropism differ between plant species. *J Exp Bot* 68: 3441-3456. doi: 10.1093/jxb/erx193
- ④ Takahashi H, Takano M, Fujii N, Yamashita M, Suge H. (1996) Induction of hydrotropism in clinorotated seedling roots of Alaska pea, *Pisum sativum* L. *J Plant Res* 109: 335-337. doi: 10.1007/BF02344481
- ⑤ Miao R, Wang M, Yuan W, Ren Y, Li Y, Zhang N, Zhang J, Kronzucker HJ, Xu W. (2018) Comparative Analysis of Arabidopsis Ecotypes Reveals a Role for Brassinosteroids in Root Hydrotropism. *Plant Physiol* 176: 2720-2736. doi: 10.1104/pp.17.01563
- ⑥ 1001 Genomes Consortium. (2016) 1,135 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 166(2):481-491. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.063
- ⑦ Seren Ü, Vilhjálmsson BJ, Horton MW, Meng D, Forai P, Huang YS, Long Q, Segura V, Nordborg M. (2012) GWAPP: a web application for genome-wide association mapping in Arabidopsis. *Plant Cell* 24: 4793-4805. doi: 10.1105/tpc.112.108068
- ⑧ Mao B, Takahashi H, Takahashi H, Fujii N. (2022) Diversity of root hydrotropism among natural variants of *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res* 135: 799-808. doi: 10.1007/s10265-022-01412-w
- ⑨ Wormit A, Usadel B. (2018) The Multifaceted Role of Pectin Methylesterase Inhibitors (PMEIs). *Int J Mol Sci*. 19:2878. doi: 10.3390/ijms19102878

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Mao Boyuan, Takahashi Hiroki, Takahashi Hideyuki, Fujii Nobuharu	4. 巻 135
2. 論文標題 Diversity of root hydrotropism among natural variants of Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 799 ~ 808
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-022-01412-w	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 MAO BOYUAN and FUJII NOBUHARU
2. 発表標題 Comparison of the interaction between root hydrotropism and root gravitropism in natural variations of Arabidopsis by analyzing root hydrotropism in a stationary condition
3. 学会等名 日本宇宙生物科学会第35回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Boyuan Mao, Fujii Nobuharu
2. 発表標題 Diversity of Root Hydrotropism among Natural Variants of Arabidopsis
3. 学会等名 日本宇宙生物科学会第36回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Boyuan Mao, Hiroki Takahashi, Hideyuki Takahashi, Nobuharu Fujii
2. 発表標題 Identification of MYB52 Gene That is Involved in Differences of Root Hydrotropism in Arabidopsis Natural Variants by GWAS
3. 学会等名 東北植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤井伸治、卯博源、曾我康一、高橋弘紀、高橋秀幸、唐原一郎
2. 発表標題 シロイヌナズナの自然変異体間での根の水分屈性の多様性を生み出す擬似微小重力条件下で水分 屈性を抑制する分子機構
3. 学会等名 第37回宇宙環境利用シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Boyuan Mao, Kouichi Soga, Hiroki Takahashi, Hideyuki Takahashi, Nobuharu Fujii
2. 発表標題 Identification of MYB52 Gene That is Involved in Differences of Root Hydrotropism Through Regulate the Mechanical Strength of Roots in Arabidopsis Ecotypes by GWAS
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Boyuan Mao, Kouichi Soga, Nobuharu Fujii.
2. 発表標題 MYB52, Brassinosteroids and RKR peptide interfere with Hydrotropism in Arabidopsis Roots
3. 学会等名 学術変革領域研究(A)「不均一環境と植物」第7回領域会議
4. 発表年 2023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
---------	---------