

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：12201

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22412

研究課題名(和文)フェアリー化合物が新しい植物ホルモンであるかを検証するための遺伝学的研究

研究課題名(英文)Genetic study to validate whether fairy chemicals are new plant hormone

研究代表者

岡本 昌憲 (Okamoto, Masanori)

宇都宮大学・バイオサイエンス教育研究センター・准教授

研究者番号：50455333

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：植物の成育を攪乱するアレロケミカルとしてキノコから単離されたフェアリー分子群は植物にも微量に内在しており、新たな植物ホルモンとしての定義に合致する特性を有している。しかしながら、フェアリー分子が生理作用を引き起こすためのシグナル因子は未だ報告がない。そこで、フェアリー分子の作用秩序の解明を目指し、分子生物学研究に優れたシロイヌナズナを使って感受性変異株の単離を目指した。フェアリー分子AHXに対して高感受性を示すシロイヌナズナのE184野生系統にEMS変異処理を施し、最終的にAHXに対して非感受性を示す変異株の単離に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでフェアリー分子群に対して感受性の変化した変異株の報告はない。得られた変異株の原因遺伝子を明らかにすることで、フェアリー分子の作用秩序の分子機構が進むことが期待される。フェアリー分子のシグナル伝達因子が明らかになることで、それら遺伝子を操作することで、植物分子育種の研究へと発展する。さらに、シグナル伝達因子に作用する化合物探索の研究は、新しい植物成長調節剤の開発に発展する事が期待される。

研究成果の概要(英文)：The fairy molecules isolated from mushrooms as allelochemicals that control plant growth, are also present in a trace amount in plants and have properties that fit the definition of new plant hormones. However, signaling components to induce physiological effects via fairy molecules have not yet been reported. Therefore, to elucidate the molecular action of fairy molecules, we aimed to isolate fairy molecule insensitive mutants using *Arabidopsis thaliana*, an excellent model plant for molecular biological studies. The E184 accession among *Arabidopsis* wild type accessions showed hypersensitive to the AHX. We performed EMS mutation treatment to the E184 accession and finally succeeded in isolating several mutant lines that are insensitive to AHX.

研究分野：植物分子生理学および農芸化学

キーワード：植物ホルモン 成長制御 遺伝学 受容体 変異株

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物自身が生体内で合成する低分子有機化合物の中で、陸上植物に共通に含まれ、内生量が微量で多様な生理活性を示すものは植物ホルモンと呼ばれ、これまでにオーキシンやジベレリンなどに代表される 9 種のみが報告されているだけである。それぞれの代謝および受容体を含むシグナル伝達の解析が進み、植物の生理作用の理解が分子レベルで進んでいるが、陸上植物の高度な発生や多様な環境応答するには、未だ発見されていない低分子有機化合物のホルモンの存在が想定される。

一方、陸上植物の生体内に普遍的に存在し、内生量が微量であることに加えて、 μM オーダーの低濃度の化合物投与により植物の生長や生理応答に影響をもたらすものは、植物ホルモンの定義に合致する。近年発見されたプリン代謝経路から生合成されるフェアリー分子(図 1)は、もともとキノコが生産する化学物質が植物の成長に影響を与える植物生長物質として

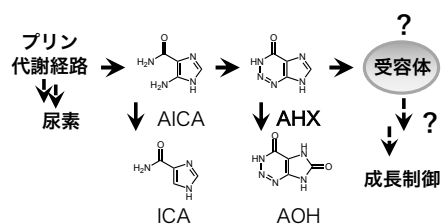


図1. フェアリー分子の種類と代謝経路

単離され、化合物投与実験により、イネ、コムギなどの成長促進や穀物の収量向上に影響をもたらすことが報告されてきた。分析機器の性能の向上に伴い、多数の植物種でフェアリー分子群が微量に内在することが確認された。この分子群の存在は、無菌的に生育されたイネやシロイヌナズナからも検出されている。しかしながら、分子遺伝学的な解析が実施されていないために、受容体を含む標的タンパク質やシグナル因子が一切不明であるため、フェアリー分子がどのように植物の成長に影響を及ぼしているかその分子機構は不明であった。

2. 研究の目的

植物に内在するフェアリー分子群が及ぼす生理作用については、シグナル伝達経路が一切明らかになっていない。そこで、フェアリー分子の受容およびシグナル伝達因子を明らかにするために、分子遺伝学的解析に優れたシロイヌナズナを研究材料として用いてフェアリー分子に対して感受性の低下した変異株の単離を試みる。最終的に、得られた遺伝学的材料を解析することで、フェアリー分子が 10 番目の新しい植物ホルモンになり得るかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

植物のプリン代謝経路から生合成されるフェアリー分子群はこれまでに AICA、ICA、AHX、AOH(図 1)の 4 種が発見され、多くの植物種において AHX や AOH の 2 種が強い活性を示すことが知られている。これら 2 種のフェアリー化合物に対して、シロイヌナズナの世界標準系統であるコロンビア系統に対してエチルメタンサルホン酸(EMS)処理による遺伝変異集団からフェアリー分子に対して非感受性を示す変異株の単離を試みた。

4. 研究成果

(1). シロイヌナズナ世界標準系統であるコロンビアにおける AHX の感受性について

シロイヌナズナのコロンビア系統に AHX や AOH を投与した場合、 $400\mu\text{M}$ という高濃度で芽生えの生育阻害を僅かに示す程度で、一般的なホルモンの濃度域からは程遠い弱い活性であった。このことが、フェアリー分子のシグナル伝達経路解明のための分子遺伝学研究が進まなかった原

因であることが判明した。しかし、シロイヌナズナのコロンビア系統以外の野生系統に対して AHX の成長阻害効果を確認した結果、複数の野生系統で AHX に対する感受性が高く、E185 系統では、数 μM というホルモン濃度として規定の範囲に入る低濃度で芽生えの生育阻害が起こることを発見した(図2)。このことは、E185 系統ではフェアリー分子の生理作用を伝えるシグナル伝達経路が存在し、コロンビア系統ではそれが欠落あるいは減衰していることを示唆している。そこで、シロイヌナズナの野生 E185 系統に存在するフェアリーを受容する受容体から下流シグナル因子の同定を目指し、E185 系統に対してエチルメタンスルホン酸(EMS) 処理による遺伝変異集団を独自に作成して、フェアリー分子に対して非感受性を示す変異株の単離を試みた。

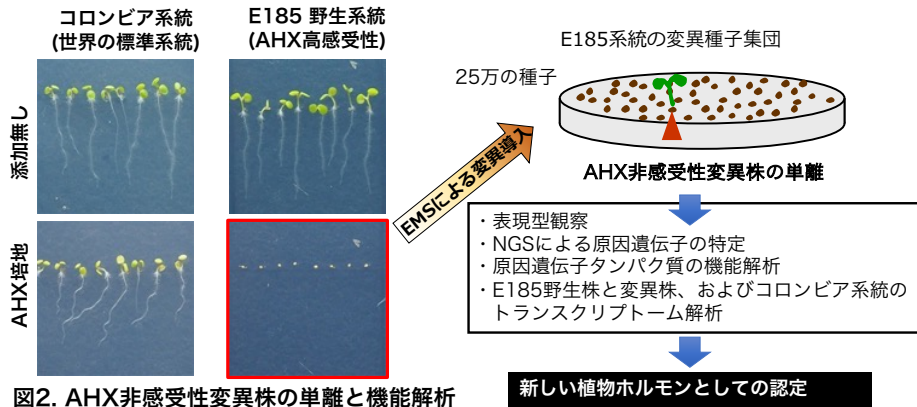


図2. AHX非感受性変異株の単離と機能解析

(2). シロイヌナズナ E185 系統の EMS 処理による遺伝変異集団からの変異株の単離

E185 系統 EMS 変異集団の 25 万個体に対して、AHX 上で発芽あるいは生育阻害を示さない変異株を 1 次スクリーニングにて約 180 の変異株を単離した。ついで、2 次スクリーニングでフェアリー非感受性変異株を約 30 種類単離した。変異株は大きく分けて、①生育過程で、萎れやすく、葉の形態が丸まった変異株群と②植物体の大きさが若干小さくなったものの、形態的に E185 野生株と同等の変異株群の 2 種類に分類された(図3)。そこで、①については、植物の乾燥ストレス応答に必修の植物ホルモンのアブシシン酸(ABA)に関連した変異株であるかどうかを、種子発芽、ABA 感受性試験や ABA の定量分析によって解析した結果、その多くは ABA 欠損変異株であることが強く疑われた。この結果は、AHX が ABA の生合成に作用して、ABA の内生量を向上させていることを示唆するものである。一方、変異株が ABA に関連しなかった変異株は、バックグラウンドである E185 野生系統と掛け合わせて F2 まで展開し、F2 の分離集団から、DNA 配列を決定することで原因遺伝子の同定を行っている最中である。また、②の変異株群においても、同様に原因遺伝子の同定を行う予定である。

これら遺伝学的な解析から、フェアリー分子は少なくとも、ABA の生合成をポジティブに制御している働きがあることが遺伝学研究によって示唆された。

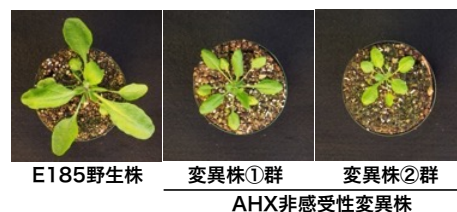


図3. AHX非感受性変異株の形質

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤 綾乃、鈴木 智大、崔 宰燾、青木 大地、野村 崇人、岡本 昌憲、河岸 洋和
2. 発表標題 フェアリー化合物の作用機序解明に向けたシロイヌナズナ有用系統の探索
3. 学会等名 日本農芸学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 綾乃、鈴木 智大、崔 宰燾、青木 大地、堤 祐大、野村 崇人、岡本 昌憲、河岸 洋和
2. 発表標題 植物生長調節物質、フェアリー化合物の作用機序解明に向けたシロイヌナズナ有用系統の探索.
3. 学会等名 第23回日本きのこ学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中裕基、鈴木智大、伊藤綾乃、崔宰燾、謝肖男、野村崇人、岡本昌憲、河岸洋和
2. 発表標題 フェアリー化合物に対して非感受性を示すシロイヌナズナ変異株の単離
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中裕基、鈴木智大、伊藤綾乃、崔宰燾、謝肖男、野村崇人、岡本昌憲、河岸洋和
2. 発表標題 フェアリー化合物の作用機序解明に向けたシロイヌナズナの非感受性変異株の作出とその解析
3. 学会等名 日本きのこ学会第24回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中裕基, 鈴木智大, 伊藤綾乃, 崔宰熏, 謝肖男, 野村崇人, 岡本昌憲, 河岸洋和
2. 発表標題 フェアリー化合物2-アザヒボキサンチン非感受性シロイヌナズナ変異株の単離と解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022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	河岸 洋和 (Kawagishi Hirokazu) (70183283)	静岡大学・農学部・特任教授 (13801)	フェアリー分子の分与

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