

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05987

研究課題名（和文）イネの草丈・穂・種子のサイズをコントロールするGタンパク質シグナル伝達経路の解明

研究課題名（英文）Elucidation of G-protein signaling pathway controlling plant height, panicle and seed size in rice.

研究代表者

三浦 孝太郎 (Miura, Kotaro)

福井県立大学・生物資源学部・教授

研究者番号：70571561

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、イネの器官サイズや収量など農業形質を制御する3量体Gタンパク質の各構成タンパク質が、どのように相互作用することで細胞分裂活性を制御し、器官サイズを決定するのか？を明らかにする事を目的とし、研究を行った。

その結果、イネではほとんど3量体を形成していないことで器官サイズを大きくしており、一部構成因子は植物体の生存の維持に必須であること、植物体及び種子の伸長には brassinosteroid シグナルやプロテアソーム経路を介して情報伝達を行っていることを明らかにすることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヘテロ3量体Gタンパク質は、イネのみならず植物に非常に幅広く保存されているが、植物種ごとにサブユニットの構成が異なり、変異体が示す表現型も多様である。このため、ヘテロ3量体Gタンパク質は、各植物種で独自の機能が多様に進化していると推測でき、今回イネで明らかにしたシグナル伝達機構は他の作物においても農業へ応用できる可能性が高い。このことから、将来の作物育種において3量体Gタンパク質の構成因子を標的とした遺伝子編集や突然変異を活用した育種を行う事で、収量性やストレス耐性などを付与する育種が可能になると期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we tried to clarify how the trimeric G proteins, which control agronomic traits such as organ size and yield in rice, interact to regulate cell division activity and determine organ size.

As the results we revealed that organ size is increased by little or no trimerisation, that some components are essential for maintaining plant survival, and that plant and seed elongation is mediated by brassinosteroid signalling and proteasomal pathways in rice.

研究分野：遺伝育種学、植物分子生物学

キーワード：イネ ヘテロ3量体Gタンパク質

## 1. 研究開始当初の背景

植物のヘテロ3量体Gタンパク質は、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の3つのサブユニットで構成される情報伝達因子だと考えられており、変異体を用いた解析により、様々な器官の形成、植物ホルモンや環境への応答に關与する事が示されている。イネには1つの $\alpha$ 、1つの $\beta$ 、5つの $\gamma$ サブユニットが保存されている。イネでは、 $\alpha$ サブユニットが種子・草丈・穂の形を制御し、 $\beta$ サブユニットが種子のサイズ、 $\gamma$ サブユニットが草丈と穂の形を制御している事が示されており、 $\alpha$ と $\beta$ と $\gamma$ サブユニットはそれぞれ共通の制御メカニズムを有していると考えられる。また、イネとシロイヌナズナでは、各サブユニットの構成や変異体の表現型が異なっており、進化の過程でGタンパク質シグナルの機能が分化している可能性がある。課題申請者らは、これらの各サブユニットの変異体を用いた遺伝学的解析により、 $\alpha$ サブユニットが下流シグナルのエフェクターに作用し、 $\beta$ と $\gamma$ タンパク質は $\alpha$ サブユニットと3量体を形成することで、 $\alpha$ を不活性化する機能を有していると推測し、種子長および草丈と穂の制御モデルを構築した(図1)。

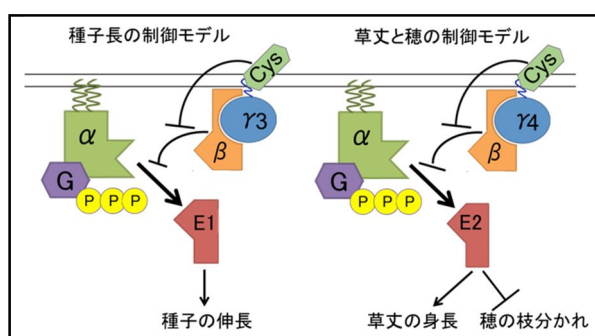


図1 イネのヘテロ3量体Gタンパク質による種子長と草丈・穂の制御モデル

## 2. 研究の目的

本研究では、イネ3量体Gタンパク質の各構成タンパク質が、どのように相互作用することで細胞分裂活性を制御し、器官サイズを決定するのか?を明らかにする事と、上記の制御モデルの実証を目的とし、研究を進める。

## 3. 研究の方法

本研究では、イネヘテロ3量体Gタンパク質による器官サイズの制御機構を明らかにするために、以下の小課題を設定して研究を実施する。

### 小課題1 各サブユニット変異体におけるサブユニットの状態の解析

小課題1では、 $\alpha$ サブユニットにHAタグを融合したタンパク質を各サブユニット変異体に発現させて免疫沈降を行う事で、 $\alpha$ サブユニット変異の影響で $\alpha$ サブユニットが単体で存在するか、3量体を形成しているかを明らかにする。この実験を通じて、各サブユニット変異体の表現型の変化が、 $\alpha$ サブユニットの活性状態によって一義的に制御されているかを明確にする。

### 小課題2 イネGタンパク質関連変異体の遺伝子単離

課題申請者は、これまでにGタンパク質変異体に類似した小さな種子を形成する変異体を多数見出している。これらの変異体内、3系統がd1変異体と同様の小さな種子を形成するが、d1との二重変異体でもd1と同様の種子を形成することが明らかになっている。すなわち、これら3系統の変異体はd1と同一のシグナル伝達を制御する遺伝子の変異体であることが期待出来る。また、これら3系統は、独立遺伝子の変異体であり、いずれも細胞数が減少することで種子が小さくなっている事が明らかになっている。そこで小課題2では、これらのGタンパク質関連変異体の遺伝子単離を行う。

### 小課題3 新規3量体Gタンパク質関連タンパク質のタンパク質相互作用解析

小課題2で新たに同定した、Gタンパク質関連タンパク質をYeast two hybridや、HAタグ融合サブユニットを用いた免疫沈降などにより、サブユニットとの相互作用を解析する。

## 4. 研究成果

### 小課題1 各サブユニット変異体におけるサブユニットの状態の解析

HAタグを融合したサブユニットを用いて免疫沈降実験を行うためにHA融合Gタンパク質を発現する遺伝子組換え植物を作出したその結果、この植物は通常よりも種子や植物体が大きくなり、これまでの経験上サブユニットとの相互作用が起こっていないことを推測させる表現型を示した。そのため、抗G抗体の精度を高め、直接Gを免疫沈降できる実験系を開発した。その結果、GサブユニットがGサブユニットに対して結合すると器官生長に対して抑制的に働くことが明らかになった。また、G4、G5サブユニットは機能冗長的に草丈を制御すること、G2はサブユニットと協働して植物体の維持を行うことを明らかにした。

### 小課題2 イネGタンパク質関連変異体の遺伝子単離

d1との二重変異体でd1と同様の種子を形成した3つのGタンパク質関連変異体の遺伝子を単離することに成功した。これら二つの遺伝子について、はそれぞれブラシノステロイドシグナル伝達系と、プロテアソーム経路に関連する遺伝子であり、二重変異体を用いた遺伝解析を証災異に行った所、これらのタンパク質が一部Gの機能と関連があることを初めて示すことに成功した(図2)。

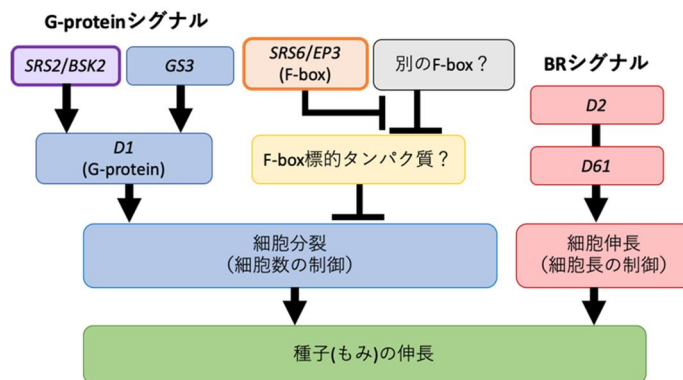


図2 Gタンパク質関連変異体が制御する種子形制御モデル

### 小課題3 新規3量体Gタンパク質関連タンパク質のタンパク質相互作用解析

新規Gタンパク質関連変異体について、抗G抗体を用いたタンパク質相互作用実験を行ったが、いずれもGタンパク質との相互作用は見られないという結果を得た。

上記の3つの小課題の結果から、イネの3量体Gタンパク質ではほとんど3量体を形成しておらず、植物の器官サイズを大型化する役目を果たしており、ブラシノステロイドシグナルやプロテアソーム経路に関連しながらを種子サイズや草丈などを制御する情報伝達を行っていることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Chaya Genki, Segami Shuhei, Fujita Moeka, Morinaka Yoichi, Iwasaki Yukimoto, Miura Kotaro	4. 巻 11
2. 論文標題 OsGCC2, G Subunit of Heterotrimeric G Protein, Regulates Plant Height by Functionally Overlapping with DEP1 in Rice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 422 ~ 422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants11030422	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 Iwasaki Y., Itoh T., Hagi Y., Matsuta S., Nishiyama A., Chaya G., Kobayashi Y., Miura K., Komatsu S.	4. 巻 21
2. 論文標題 Proteomics Analysis of Plasma Membrane Fractions of the Root, Leaf, and Flower of Rice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21196988	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小川岳斗、茶谷弦輝、瀬上修平、岩崎行玄、三浦孝太郎
2. 発表標題 イネ短粒変異体srs2、srs6の遺伝解析
3. 学会等名 日本育種学会第143回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 茶谷弦輝、瀬上修平、藤田萌香、森中洋一、三浦孝太郎、岩崎行玄
2. 発表標題 イネヘテロ 3 量体 G タンパク質 5 サブユニットは DEP1 と冗長的に草丈を制御する
3. 学会等名 日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林由季, 尾嶋真衣, 吉村優真, 茶谷玄輝, 三浦孝太郎, 岩崎行玄
2. 発表標題 イネ3量体Gタンパク質複合体を構成するサブユニットの定量
3. 学会等名 日本育種学会第139回講演会
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
---------	---------