

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02088

研究課題名（和文）酸性土壌・乾燥・冠水耐性を多面制御するSTOP1システムの進化多様性

研究課題名（英文）Evolution of STOP1 system for management of multiple stress tolerance

研究代表者

小山 博之（KOYAMA, Hiroyuki）

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：90234921

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：植物は様々な環境ストレスにさらされながら生育している。環境ストレスは、時に相対的で、あるストレスに対する耐性が強いことが他のストレスに対して感受性をもたらすこともある。シロイヌナズナで発見されたSTOP1転写因子は、細胞の酸耐性を正に制御し、その機構を用いて冠水耐性を正に制御する。一方、塩耐性を正に制御するが、乾燥耐性を負に制御する。土壌への塩集積は、乾燥地で生じやすいこともあり、これは同一の分子が制御するストレス耐性が相反する例である。本研究では、STOP1転写因子の制御下で、調節タンパク質や転写因子によるクロストークが、相反ストレスの解消に貢献していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の環境耐性の分子機構を理解することは、持続可能な食料システムを実現するために重要です。この研究では、陸上植物の環境ストレス耐性を制御する遺伝子であるSTOP1が、どのようにして異なるストレス耐性を制御するか、コケやモデル植物を用いて調べました。複雑な制御機構が、調節タンパク質や転写因子などのほかのタンパク質との相互作用で行われていることと、それが植物により多様であることを明らかにしました。

研究成果の概要（英文）：Higher plants adapt to various environmental stresses by resistant mechanisms, while those are often antagonistic. For example, STOP1 transcription factor, which was originally discovered in Arabidopsis, positively regulates tolerance to cellular acidification, and uses this mechanism to positively regulate submergence tolerance which induce cellular acidification. On the other hand, salt tolerance is positively controlled by STOP1, but drought tolerance is negatively and antagonistically controlled by STOP1. Salt accumulation in soil may be more likely to occur in dry areas, and this is an example of conflicting stress tolerances controlled by the same molecule. In this study, we revealed that crosstalk between regulatory proteins and/or transcription factors, which form gene family, with STOP1 contributes to alleviate negative antagonistic effect of STOP1 in stress tolerance.

研究分野：植物栄養学

キーワード：STOP1 環境耐性 SAUR 窒素吸収

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物の環境耐性を向上させることは持続可能な農業体系を確立するために極めて重要である。ゲノム編集等により標的遺伝子を制御することが可能となり、品種間差(耐性品種と感受性品種の差)や、近縁種(野生種と栽培種などの差)の差に着目して、耐性遺伝子の発現量や重要なタンパク質を耐性型に改変することなどによる品種改良が理論上可能となり、イネなどでは野生種と栽培種の比較研究が盛んに取り込まれるようになった。その一方で、様々な生物種でゲノム配列の解析が進むにつれ、系統学的には大きく離れた植物種や、特定の環境で強い耐性を示す植物種の遺伝子情報を俯瞰・比較することが可能になってきた。この情報に基づき、例えば遺伝子多重組換え技術を用いることで、ストレス耐性モジュールを導入することなどが可能となりつつある。これを実現するためには、ストレス耐性機構として重要な転写制御に関して、マスタースイッチ転写因子と呼ばれ耐性に関与する多数の遺伝子発現を調節する経路が、ストレス耐性に応じてどのように下流の遺伝子発現を最適化するかなど、複雑系を理解する情報が望まれている状況にあった。

2. 研究の目的

申請者は、自らが発見した STOP1 転写因子が、細胞内 pH の転写調節を中軸として酸性土壌耐性のみならず、冠水・乾燥耐性も制御することを突き止めた。特に注目する点は、STOP1 システムは陸上適応時点の冠水耐性獲得時に出現したと考えられること(進化的な特徴)。STOP1 は乾燥耐性を“負”に制御をするということである。この“多面発現形質(Pleiotropy)”の制御は、STOP1 自身の制御の進化に加えて他の環境耐性システムやクロストーク機構の進化を必要としたことは明らかである。この提案では、異なる進化を遂げた植物を材料とする情報生物学・逆遺伝学(比較ゲノムと組み合わせる)により STOP1 システム制御機構の違いを分子レベルで特定し、「合成生物学育種」の基盤を構築して、作物の環境耐性を飛躍的に向上させる基盤を確立することを目的とした。

これには、従来の作物の品種改良に関わる研究では対象とされていなかったコケ植物などでの STOP1 経路の解明や、複雑な経路を切り分けるために冗長性が高い調節タンパク質群の関与を特定することなど、ゲノム情報を活用した一連の研究を実施した。

3. 研究の方法

1) ゼニゴケ STOP1 相同遺伝子破壊株の作成と解析

ゲノム配列に対する相動性検索により、ゼニゴケは 2 コピーの STOP1 を持つと考えられた。この両者を STOP1a 及び STOP1b と名付け、それぞれをゲノム編集(Crisper 法)で破壊した組換え体を作成した。両組換え体を、イオンストレス(アルミニウム及び低 pH)や低酸素ストレスに暴露して生育阻害を調べるとともに、トランスクリプトーム解析を実施した。シロイヌナズナゲノム情報をリファレンスとして、機能推定などを行った。

2) 冗長性がある転写因子とのクロストークの検討

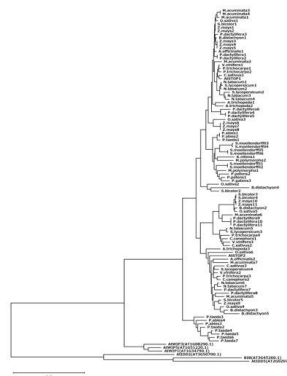
シロイヌナズナ STOP1 の転写制御を受ける冗長性が高い転写因子(ジーンファミリーを形成している転写因子)や、調節タンパク質について機能解析を実施した。機能解析では、遺伝子破壊株、遺伝子過剰発現体などを作成して、表現型解析と同時にプロモーターの構造解析、タンパク質相互作用の解析などを実施した。

4. 研究成果

1) ゼニゴケ遺伝子破壊株の機能解析

相動性検索により、ゼニゴケは 2 コピーの STOP1 様転写因子を持つことがわかった(図 1)。これらの相同遺伝子は、Zinc Finger 部位の保存性は極めて高く、さらにそれ以外の領域の相同性も高いことから、遺伝子重複(もしくはゲノム重複)により生じたものと考えられた。これらは、ともにシロイヌナズナ STOP1 と同じ系統樹に区分された。

図 1 ゼニゴケを含む STOP1 の相同タンパク 赤点を付したものはゼニゴケ STOP1



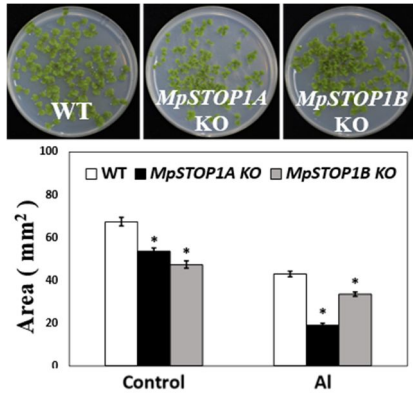


図2 ゼニゴケ STOP1破壊によるアルミニウム耐性の省長

これらの転写因子を破壊したところ、アルミニウムに関しては、STOP1a のみが感受性を示し、低酸素に関しては STOP1b のみが感受性を示した。過去の研究からは、シロイヌナズナやタバコでは、それらのストレスが単一の分子で制御されていることが明らかとなっていたが、コケではコピー数を増加させたうえで独立に形質を進化させたと考えられる (図2)。

シロイヌナズナなどでは、タンパク質ドメインの獲得によりアルミニウム耐性を、低酸素耐性コアに付加したと考えられるが、これが、植物に一般的な環境適応進化様式でないと考えられる。

一方、STOP1a 及び b が転写制御する遺伝子は、トランスクリプトームの結果から、明確に異なることもわかった。これは、上記のタンパク変異 (ドメイン獲得) が、1a と 1b のタンパクに起きていることを示すもので、植物のストレス耐性獲得の一端を知るために、注目される結果といえる。

一方、STOP1a 及び b が転写制御する遺伝子は、トランスクリプトームの結果から、明確に異なることも

2) シロイヌナズナ SAUR における機能分化

SAUR (Small Auxin Up RNA) はオーキシン誘導により、PP2 タンパクの制御を介してアブシジン酸応答経路を遮断する調節タンパク質である。そのほとんどがオーキシン誘導発現するが、シロイヌナズナでは遺伝子ファミリーを作り異なるシグナルで誘導されるものも存在する。この研究では、そのうちの1つが STOP1 により誘導され、細胞質の pH ホメオスタシスを介して、アルミニウム耐性に貢献することが分かった。この遺伝子は、遺伝子重複により獲得したもので、プロモーターに STOP1 制御部位が挿入 (もしくは形成) されたものと考えられた。

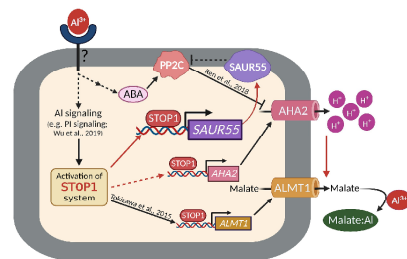


図3 SAUR の STOP1 経路における貢献モデル

3) 冗長性がある転写因子系とのクロストーク等の進化

冗長性がある転写因子のモデルとして、シロイヌナズナ STOP1 制御系に関しては、オーキシン輸送活性も担う NRT1.1 の TPC20 との共制御を明らかにした。これは、窒素応答による根の形状変化にも STOP1 が関わることを明らかにしたもので、進化的には、高等植物とコケ植物の分岐後に生じたものと考えられた。その一方で、乾燥耐性が強い Cowpea では、シロイヌナズナタンパク質では生じる Growth Penalty を回避するタンパクレベルの変化を伴って、コピー数が増加していることが明らかとなった。これらは、マスタースイッチ転写因子が制御する、相反する耐性形質に起因する負の側面を解消するための戦略と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sadhukhan Ayan, Prasad Shiva Sai, Mitra Jayeeta, Siddiqui Nadeem, Sahoo Lingaraj, Kobayashi Yuriko, Koyama Hiroyuki	4. 巻 256
2. 論文標題 How do plants remember drought?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Planta	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00425-022-03924-0	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 Agrahari Raj Kishan, Enomoto Takuo, Ito Hiroki, Nakano Yuki, Yanase Emiko, Watanabe Toshihiro, Sadhukhan Ayan, Iuchi Satoshi, Kobayashi Masatomo, Panda Sanjib Kumar, Yamamoto Yoshiharu Y., Koyama Hiroyuki, Kobayashi Yuriko	4. 巻 12
2. 論文標題 Expression GWAS of PGIP1 Identifies STOP1-Dependent and STOP1-Independent Regulation of PGIP1 in Aluminum Stress Signaling in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.774687	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 Koyama Hiroyuki, Wu Liujie, Agrahari Raj Kishan, Kobayashi Yuriko	4. 巻 14
2. 論文標題 STOP1 regulatory system: Centered on multiple stress tolerance and cellular nutrient management	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Plant	6. 最初と最後の頁 1615 ~ 1617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molp.2021.08.014	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 Agrahari Raj Kishan, Kobayashi Yuriko, Enomoto Takuo, Miyachi Tasuku, Sakuma Marie, Fujita Miki, Ogata Takuya, Fujita Yasunari, Iuchi Satoshi, Kobayashi Masatomo, Yamamoto Yoshiharu Y., Koyama Hiroyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 STOP1 regulated <i>SMALL AUXIN UP RNA55</i> (<i>SAUR55</i>) is involved in proton/malate co secretion for Al tolerance in Arabidopsis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Direct	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pld3.557	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 Srivastava Richa, Sadhukhan Ayan, Koyama Hiroyuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Aluminum Stress Tolerance in Plants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: A Biological, Omics, and Genetic Engineering Approach	6. 最初と最後の頁 87 ~ 103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/9781119906506.ch4	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 Tokizawa Mutsutomo, Enomoto Takuo, Chandnani Rahul, Mora-Mac?as Javier, Burbridge Connor, Armenta-Medina Alma, Kobayashi Yuriko, Yamamoto Yoshiharu Y., Koyama Hiroyuki, Kochian Leon V.	4. 巻 120
2. 論文標題 The transcription factors, STOP1 and TCP20, are required for root system architecture alterations in response to nitrate deficiency	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2300446120	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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 宮地 右, 渡邊 ひかり, 阿相 幸恵, 井内 聖, 小林 正智, 小林 佑理子, 小山 博之
2. 発表標題 ゼニコケMpSTOP1 KO株を用いたAI耐性関連遺伝子の解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会中部支部
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Raj Kishan Agrahari, 榎本 拓央, 伊藤 弘樹, 中野 友貴, 柳瀬 笑子, 渡部 敏裕, 井内 聖, 小林 正智, 山本 義治, 小山 博之, 小林 佑理子
2. 発表標題 AI 耐性遺伝子PGIP1 の発現量ゲノムワイド関連解析によるPGIP1 発現を制御するシグナル伝達経路と遺伝子の同定
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
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 分担 者	井内 聖 (IUCHi Satoshi) (90312256)	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・専任研究員 (82401)	

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		
インド	Indian Institute of Technology, Guwahati	Indian Institute of Technology, Jodhpur	
カナダ	University of Saskatchewan		